

MAURO MULLER CWIERTNIA

VARIABILIDADE DAS FRAÇÕES DE BAIXO PESO MOLECULAR DA  
BUTIRILCOLINESTERASE NO DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2.

Dissertação apresentada como requisito parcial à  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas,  
Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da  
Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vânia Manfredini Alcântara

CURITIBA

2005

# TERMO DE APROVAÇÃO

MAURO MÜLLER CWIERTNIA

Título: "Variabilidade das frações de baixo peso molecular da butirilcolinesterase no *diabetes melitus* tipo 1 e tipo 2"

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Paraná.



Prof. Dra. Vania Manfredini Alcantara  
Orientadora



Prof<sup>a</sup>. Dra. Luiza Tamie Tsuneto  
Universidade Estadual de Maringá



Prof. Dr. Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza  
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 17 de fevereiro de 2005

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me cuida como Pai.

À Fundação Araucária e CAPES, Universidade Federal do Paraná e coordenação do Curso de Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas, seu coordenador, Professor Cid Aimbiré M. Santos e à infalível Regina Montrezol. À Professora Vânia Manfredini de Alcântara, orientadora, aos componentes da Banca Avaliadora, Professora Luiza Tsuneto e Professor Ricardo L. R. de Souza.

Ao Professor Orlando Cwiertnia, meu pai, pelos exemplos de integridade e dedicação, à Professora Lucimara M. Cwiertnia, minha mãe, pelo que ensinou sobre coragem e garra. A Norma e Írio Marcello, pelo lar que me ofereceram, sem o que seria praticamente inútil todo esforço.

À Lorena E. Graef, pela valiosa força no início e muito especialmente aos “Quatro Fantásticos”, Aline Davet, Jerusa Machado, Julio Machado Jr. e Cassyano J. Correr, por tantas coisas que somente nós sabemos.

Mas dedico este trabalho e seu esforço à doce Fernanda, inspiração para meus dias.

## SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	VI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMO.....	IX
ABSTRACT.....	X
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. GENERALIDADES SOBRE COLINESTERASES.....	3
2.2. FENÓTIPOS DA BUTIRILCOLINESTERASE.....	5
2.3. ESTRUTURA MOLECULAR DA BUTIRILCOLINESTERASE.....	7
2.4. FORMAS MOLECULARES DA BUTIRILCOLINESTERASE.....	10
2.5. PESQUISAS RELACIONADAS ÀS ISOENZIMAS DA BChE.....	11
2.6. FUNÇÕES DA BUTIRILCOLINESTERASE.....	12
2.7. CORRELAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS DA BUTIRILCOLINESTERASE..	14
2.8. DIABETES MELLITUS.....	16
2.8.1. Classificação do Diabetes Mellitus.....	16
2.8.2. Aspectos metabólicos do Diabetes mellitus.....	17
2.9. ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS.....	19
2.10. LIPOPROTEÍNAS E RISCO METABÓLICO.....	21
3. OBJETIVOS.....	26
3.1. OBJETIVO GERAL.....	26
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1. MATERIAL.....	27
4.2. MÉTODOS.....	28
4.2.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	28
4.2.2. Determinação da atividade da butirilcolinesterase.....	32
4.2.3. Parâmetros bioquímicos analisados.....	34
4.2.4. Análises estatísticas.....	34
5. RESULTADOS.....	36
5.1. AMOSTRA TOTAL.....	36

5.2 DIABÉTICOS DE TIPO 1 E 2, DE FENÓTIPO CHE2 C5–.....	36
5.2.1 Comparação entre as médias das variáveis.....	36
5.2.2 Correlações entre as variáveis.....	40
5.2.3 Análises de regressão múltipla escalonada.....	46
5.2.4 Comparação entre as médias das variáveis de fenótipo CHE2 C5–, antes e após a diminuição nos valores de HbA <sub>1c</sub> .....	48
5.3 DIABÉTICOS DE FENÓTIPOS CHE2 C5– e CHE2 C5+.....	51
6. DISCUSSÃO.....	55
6.1 AMOSTRA TOTAL.....	55
6.2 DIABÉTICOS DE TIPO 1 E 2, DE FENÓTIPO CHE2 C5–.....	55
6.2.1 Comparação entre as médias das variáveis.....	56
6.2.2 Correlações entre as variáveis.....	59
6.2.3 Análises de regressão múltipla escalonada.....	60
6.2.4 Comparação das médias das variáveis, analisadas no presente estudo, antes e após a diminuição nos valores de HbA <sub>1c</sub> .....	62
6.3 ANÁLISES DOS FENÓTIPOS CHE2 C5– E CHE2 C5+.....	63
7. CONCLUSÕES.....	65
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXO I.....	85
ANEXO II.....	86

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

	Páginas
FIGURA 1 – Estrutura esquemática da molécula do monômero da BChE humana.....	9
FIGURA 2 – Esquema gráfico do gel de poliacrilamida.....	29
FIGURA 3 – Exemplo de bandas separadas na eletroforese em gel de poliacrilamida.....	30
TABELA 1. Classificação do diabetes mellitus.....	17
TABELA 2. Fatores de risco para o diabetes mellitus.....	19
TABELA 3. Médias (M) ± desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras de DM1 e DM2, de fenótipo CHE2 C5– e comparação com seus respectivos controles (C).....	38
TABELA 4. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) das diferentes formas moleculares da BChE em amostras de DM1 e DM2, de fenótipo CHE2 C5–.....	39
TABELA 5. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) diferentes formas moleculares da BChE em amostras DM1 e seus controles (C), de fenótipo CHE2 C5–.....	39
TABELA 6. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) diferentes formas moleculares da BChE em amostras DM2 e seus controles (C), de fenótipo CHE2 C5–.....	40
TABELA 7. Resultados das análises de correlação simples em amostra de pacientes diabéticos DM1 de fenótipo CHE2 C5–.....	41
TABELA 8. Resultados das análises de correlação simples em amostra de pacientes diabéticos DM2 de fenótipo CHE2 C5–.....	42
TABELA 9. Resultados das análises de correlação simples em amostra dos controles de fenótipo CHE2 C5–.....	43
TABELA 10. Coeficientes de correlação simples entre as variáveis de bioquímicas e antropométricas, em 90 pacientes DM1, fenótipo CHE2 C5–.....	44
TABELA 11. Coeficientes de correlação simples entre as variáveis de bioquímicas e antropométricas, em 126 pacientes DM2, fenótipo CHE2 C5–.....	45
TABELA 12. Resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo as atividades absolutas (AA) das diferentes formas moleculares da BChE como dependentes nos DM1 de fenótipo CHE2 C5–.....	47
TABELA 13. Resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo as atividades absolutas (AA) das diferentes formas moleculares da BChE como dependentes nos DM2 de fenótipo CHE2 C5–.....	47
TABELA 14. Resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo as atividades das diferentes formas moleculares da BChE como dependentes nos 159 controles de fenótipo CHE2 C5–.....	48

TABELA 15. Médias (M) $\pm$ desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) de algumas variáveis que apresentaram modificação após a diminuição nos valores da HbA1c, em DM1 de fenótipo CHE2 C5-.....	49
TABELA 16. Médias (M) $\pm$ desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) de algumas variáveis que apresentaram modificação após a diminuição nos valores da HbA1c, em DM2 de fenótipo CHE2 C5-.....	50
TABELA 17. Médias (M) $\pm$ desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras de fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+ (DM1).....	52
TABELA 18. Médias (M) $\pm$ desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras de fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+ (DM2).....	53
TABELA 19. Médias (M) $\pm$ desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras dos controles de fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+ .....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	atividade absoluta	Cys	cistina
ABChE	atividade total da butirilcolinesterase	DAC	doença arterial coronariana
ACh	acetilcolina	DM	diabetes mellitus
AChE	Acetilcolinesterase	DM1	diabetes mellitus tipo 1
Apo B	apolipoproteína B100	DM2	diabetes mellitus tipo 2
AR	atividade relativa	DTNB	ácido 5,5'-ditiobis-2- nitrobenzóico
Asp	asparagina	EDTA	ácido etilenodiaminotetraacético
B1	monômero	G1	monômero
B4	monômero ligado à albumina	G1	monômero
B5	dímero	G1-alb	monômero ligado à albumina
B7	trímero	G2	dímero
B8	tetrâmero e frações heterólogas	G3	trímero
BCh	butirilcolina	G4	tetrâmero
BChE	butirilcolinesterase	Glu	glutamina
<i>BChE</i>	loco responsável pela expressão de BChE	HbA <sub>1c</sub>	hemoglobina glicada
C	controle	HDL	lipoproteína de alta densidade
CALT	razão cintura/altura	HDL-C	colesterol da lipoproteína de alta densidade
CC	circunferência da cintura	His	histidina
CHE2 C5-	fenótipo com ausência do complexo C <sub>5</sub>	IMC	índice de massa corporal
CHE2 C5+	fenótipo portador do complexo C <sub>5</sub>	LDL	lipoproteína de baixa densidade
<i>CHE2</i>	loco responsável pela expressão de C <sub>5</sub>	LDL-C	colesterol da lipoproteína de baixa densidade
CT	colesterol total	logTG	logaritmo de TG
NC-IUB	Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica	logTG/HDL-C	logaritmo da razão TG/HDL-C
RCC	razão cintura/coxa	TEMED	N,N,N',N'- Tetramethylethylenediamine
RCQ	razão cintura/quadril	TG	triglicérides
Ser	serina	TG/HDL-C	razão TG/HDL-C
T <sub>4</sub> L	tiroxina livre	Trp	triptofano
		Tyr	tirosina
		VLDL	lipoproteína de muito baixa densidade

## RESUMO

Dois locos autossômicos (*BCHE* e *CHE2*) determinam a variabilidade da butirilcolinesterase (BChE). O loco *CHE2* determina os fenótipos CHE2 C5<sup>-</sup> e CHE2 C5<sup>+</sup>, caracterizados pela ausência ou presença do complexo C<sub>5</sub>, constituído pela associação da BChE com uma proteína ainda desconhecida, de produção controlada por este loco. Além desta forma molecular, a BChE apresenta-se em associações homólogas e heterólogas que são estudadas por métodos eletroforéticos. A BChE tem mostrado relação com diversos quadros patológicos, especialmente aqueles que possuem alterações lipoprotéicas. Um destes quadros é o diabetes mellitus (DM), que agrupa vários distúrbios metabólicos, envolvendo a obesidade e alto risco de doença arterial coronariana. Foi observado que as frações de baixo peso molecular (PM) da BChE apresentam comportamento atípico em obesos. Portanto, o objetivo deste trabalho é estudar o comportamento da BChE e de suas frações de baixo PM nos diabéticos tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2). Foram analisadas amostras de DM1, DM2 e não diabéticos, para atividade total de BChE, por espectrometria e para as atividades absolutas (AAs) de cada uma das bandas de baixo PM por eletroforese em gel de poliacrilamida, seguida de reação por coloração específica sobre o gel. Os resultados mostraram que os diabéticos CHE2 C5<sup>-</sup>, de maneira semelhante aos obesos, mostraram deficiência da B6, que corre entre o dímero e o trímero e cuja composição ainda é desconhecida. Nos DM1, o índice de massa corporal (IMC) se correlacionou negativamente com as AAs das bandas 2, 3, 5, 6 e 7 e nos DM2 a razão cintura/ altura mostrou correlação positiva com as AAs das bandas 1, 2, 3, 4 e 5, relacionado o maior grau de obesidade dos DM2 e indicando que, provavelmente, a falta de insulina nos DM1 leva a uma deficiência na deposição de adiposidade nestes pacientes, prejudicando a secreção hepática de BChE. Nos DM2, CHE2 C5<sup>-</sup>, observou-se um aumento médio nas AAs de B4 (monômero-albumina), dando indicação de maior lipólise nestes pacientes; B1 (monômero) e B7 (trímero) relacionados a maior degradação e/ou maior produção extra hepática da BChE e de B5 (dímero) indicando maior produção hepática dos tetrâmeros. Os DM1 também mostraram aumentos de B1, B4 e B7, porém não de B5, fato este que talvez possa ser usado para diferenciar DM1 de DM2. Outra diferença observada entre os dois grupos foram as correlações negativas das bandas com o IMC nos DM1 e positivas com CALT (razão cintura/altura) nos DM2. Nos CHE2 C5<sup>+</sup>, pode-se concluir que este fenótipo possui uma relativa função de proteção contra as alterações metabólicas no organismo e que esta proteção pode ser perdida nos pacientes diabéticos, mas isto é apenas uma sugestão, uma vez que o número de amostras CHE2 C5<sup>+</sup> analisadas foi pequeno.

## ABSTRACT

Two autosomal loci (*BCHE* and *CHE2*) determine the butyrylcholinesterase (BChE) variability. The *CHE2* locus determines the presence or absence of the C<sub>5</sub> complex, an association of BChE with a still unknown protein controlled by this locus, giving the CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup> and CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup> phenotypes, respectively. These and other molecular forms of BChE are homologous and heterologous associations of BChE, and can be studied by electrophoretic methods. BChE have been correlated with several pathologic situations, specially related with metabolic diseases, as lipoprotein alterations and obesity. One of these pathologies is Diabetes Mellitus (DM), which is composed by several metabolic disturbances, involving obesity and increasing the risks for coronary heart disease. Earlier studies have showed that the low molecular weight forms of BChE present atypical behavior in obese individuals. So, the aim of this study is to verify the behavior of the low molecular weight forms within DM type 1 (DM1) and DM type 2 (DM2). Samples of three groups of individuals were analyzed: DM1, DM2 and non diabetic controls, for total BChE activity (ABChE) by spectrometry and the activity of each low molecular weight form (AAs), by polyacrylamide gel electrophoresis method, followed by specific coloring reaction. The results about DM CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup> showed that, like obese individuals, DM patients have deficiency of B<sub>6</sub>, that runs between dimer and trimer and whose composition is still unknown; in DM1, body mass index (BMI) correlated negatively with the AAs of bands 2, 3, 5, 6 and 7, and in DM2, the waist to height ratio (WHtR) correlated positively with the AAs of bands 1, 2, 3, 4 and 5, indicating that DM2 are more obese and, probably because of the lack of insulin, DM1 have lower rates of adiposity deposition, impairing the hepatic secretion of BChE; in DM2, increases in the AA of B<sub>4</sub> (monomer plus albumin) indicate higher lipolysis in these patients, in the AA of B<sub>1</sub> (monomer) and B<sub>7</sub> (trimer) indicate that these patients have higher rates of BChE degradation and/or extra hepatic production of the enzyme, and in the AA of B<sub>5</sub> (dimer) indicate that they also have higher hepatic production of BChE. DM1 showed increases in the AAs of B<sub>1</sub>, B<sub>4</sub> and B<sub>7</sub>, but a reduction in the AA of B<sub>5</sub>, fact that may be used as a clue for the differentiation between DM1 and DM2. Another difference observed in CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup> samples, is that BMI correlated negatively with the AAs of the bands of DM1, and that WHtR correlated positively with the bands in DM2. In CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup> controls, can be concluded that this phenotype give a relative protection against metabolic alterations, and that this protection may be lost in DM patients; but this is only a suggestion, once the number of CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup> samples used was to low.

## 1. INTRODUÇÃO

A butirilcolinesterase (BChE) é codificada pelo loco *BCHE*, situado no braço longo do cromossomo 3; é uma proteína altamente polimórfica, mostrando variações genéticas e moleculares complexas, incluindo isoenzimas e aleloenzimas e ainda não possui sua função fisiológica determinada. A BChE pode apresentar-se isolada (monômero), em associações homólogas (dímero, trímero e tetrâmero), ou compor formas heterólogas, nas quais está associada a outras substâncias que não a BChE. Nas pesquisas laboratoriais, o maior número de bandas eletroforéticas da BChE foi detectado em gel de poliacrilamida, como 12 bandas, o que leva à conclusão da provável existência de 8 formas heterólogas da enzima, uma vez que existem 4 formas homólogas conhecidas. Duas das formas heterólogas são G1-alb, constituída do monômero ligado à albumina, e C<sub>5</sub>, que é a BChE monomérica ligada a um componente ainda desconhecido determinado pelo loco *CHE2*, localizado no braço longo do cromossomo 2. Os fenótipos dessa interação entre o loco *BCHE* e o loco *CHE2* são classificados como CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup> e CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup>, pela presença ou ausência do complexo C<sub>5</sub> no soro, respectivamente.

Variações na atividade da BChE têm sido relacionadas a diversos fatores, estando entre os que determinam seu aumento o diabetes mellitus, a dislipidemia e a obesidade, além da presença do complexo C<sub>5</sub>.

O termo diabetes mellitus (DM) envolve um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia em consequência de defeitos na secreção de insulina, na ação deste hormônio no organismo ou em ambos estes aspectos. A doença é classificada em dois grupos principais de acordo com sua etiopatogenia: tipo 1 (DM1), cuja causa é a destruição das células β pancreáticas, com deficiência na secreção de insulina, em consequência de um processo autoimune ou idiopático e tipo 2 (DM2), cuja causa é uma combinação de resistência periférica à ação da insulina com uma resposta compensatória inadequada na secreção deste hormônio.

A obesidade em adulto jovem tem sido positivamente relacionada com o desenvolvimento de diabetes subsequente e a atividade da BChE está positivamente relacionada com peso corporal em adultos. Obesos CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup> e

CHE2 C5+ apresentam, em média, maior atividade do monômero ( $G_1$ ) e menor atividade do monômero ligado à albumina ( $G_1$ -alb) e do dímero ( $G_2$ ), do que os não obesos; apenas cerca de 75% dos obesos apresentam a banda  $G_1$ -alb, diferindo dos não obesos (100%); obesos com e sem  $G_1$ -alb não diferem quanto ao nível médio de albumina; as atividades das bandas  $G_1$  a  $G_4$ , assim como de  $G_1$ -alb, estão igualmente correlacionadas em não obesos, enquanto nos obesos a correlação difere entre as bandas.

A associação, nos pacientes diabéticos, entre a doença e distúrbios metabólicos, a constatação da existência de correlações entre atividade da BChE com estes distúrbios e os diferentes comportamentos apresentados pelas bandas de menores pesos moleculares em obesos e não obesos, criaram o interesse em observar o comportamento das formas de menor peso molecular nos indivíduos diabéticos, tanto do tipo 1 quanto do tipo 2; e correlacioná-las com alguns dados antropométricos, bioquímicos e hormonais destes pacientes.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. GENERALIDADES SOBRE COLINESTERASES

DALE (1914) sugeriu que uma enzima, presente no sangue, fosse responsável por catalisar a hidrólise de ésteres da colina. O termo colinesterase foi usado pela primeira vez por STEDMAN e EASSON (1932) para descrever uma enzima presente em soro eqüino, responsável pela hidrólise de ésteres da colina; esta denominação está reservada às enzimas esterases que são inibidas pela fisostigmina na concentração de  $10^{-5}$  M, uma vez que a fisostigmina nesta concentração não inibe as outras esterases (AUGUSTINSSON e BARR, 1963). ALLES e HAWES (1940), descreveram a existência de duas enzimas que catalisam eficientemente a colina, uma quimicamente classificada como acetilcolinesterase (AChE) e outra, como butirilcolinesterase (BChE).

A AChE, também denominada acetilcolina acetilhidrolase (EC 3.1.1.7), colinesterase I ou colinesterase verdadeira, é encontrada nos eritrócitos, pulmões, baço, terminações nervosas e massa cinzenta cerebral. A BChE, igualmente conhecida por pseudocolinesterase, colinesterase do soro ou colinesterase II, colinesterase não específica ou colinesterase plasmática (EC 3.1.1.8) é encontrada no fígado, pulmões, coração, cérebro (LEHMANN et al., 2000), sangue e tecido adiposo (ORESKOVIC e KUNEC-VAJIC, 1992).

A BChE encontrada no sangue é produzida no fígado (WESCOE et al., 1947; LEHMANN et al., 2000). A enzima proveniente do fígado apresenta meia vida plasmática de 12 a 14 dias (TIETZ, 1995). ORESKOVIC e KUNEC-VAJIC (1992) e POPOVIC et al. (1998) relataram a possibilidade da BChE ser produzida também no tecido adiposo, entretanto sendo regulada por mecanismos diferentes dos que controlam a via hepática, uma vez que os diferentes tecidos apresentariam mecanismos diferentes de produção da enzima. A BChE encontrada no cérebro não deriva do soro, mas é produzida no próprio tecido cerebral (PRODY et al., 1987; McTIERNAN et al., 1987).

A BChE apresenta ampla semelhança estrutural com a AChE, porém difere quanto ao controle genético e em características relacionadas à sua atividade. BChE

hidrolisa a butirilcolina (BCh) na mesma intensidade ou mais rapidamente que a ACh, enquanto que a AChE hidrolisa a BCh mais lentamente que a ACh (AUGUSTINSSON, 1971). As duas enzimas são também diferenciadas de acordo com seu comportamento frente a diversos inibidores (AUSTIN e BERRY, 1953). No entanto, a mais notória diferença entre AChE e BChE relaciona-se às suas funções, sendo a AChE responsável pela hidrólise da ACh em colina e acetato em todos os sítios de transmissão colinérgica do organismo enquanto a função da BChE ainda não foi esclarecida completamente, bem como ainda não foi identificado seu substrato natural. Apesar disso, sabe-se que a enzima está envolvida no metabolismo de succinilcolina, procaína, clorprocaína, tetracaína, cocaína, heroína, ácido acetilsalisílico e diversos organofosforados, entre outras drogas (LOCKRIDGE, 1990).

A BChE é uma proteína altamente polimórfica, mostrando variações genéticas e moleculares complexas, incluindo isoenzimas e aleloenzimas, determinadas por associações entre suas próprias moléculas e entre estas e outras substâncias existentes no sangue (revisão em ALCÂNTARA, 2000). Esta variedade nas formas moleculares da BChE parece ser resultado principalmente de modificações pós traducionais dos produtos do gene *BCHE* (MASSON, 1991).

A seqüência completa de aminoácidos da enzima usual, sua forma mais comum, já foi determinada (LOCKRIDGE et al., 1987a), o gene da colinesterase foi isolado e seqüenciado (ARPAGAUS et al., 1990), sua localização cromossômica foi identificada (SOREQ et al., 1987; ALLDERDICE et al., 1991; GAUGHAN et al., 1991) e sabe-se que existe somente um gene responsável pela determinação da estrutura da BChE. A cadeia de aminoácidos da estrutura primária da BChE humana é codificada pelo loco *BCHE* (ARPAGAUS et al., 1990), situado no braço longo do cromossomo 3 , 3q26.1 – q26.2, (SPARKES et al, 1984; ZAKUT et al., 1989). Alterações nos nucleotídeos deste gene são responsáveis por variantes da enzima; estas alterações foram determinadas e, a partir dos dados obtidos, foram deduzidas as variações de aminoácidos nas enzimas formadas (LA DU et al., 1991; BARTELS et al., 1992a; 1992b; NOGUEIRA et al., 1990; 1992; McGUIRE et al., 1989; JENSEN et al., 1992). SOUZA et al. (2005) apresentaram 58 mutações não usuais da BChE.

## 2.2. FENÓTIPOS DA BUTIRILCOLINESTERASE

Um medicamento utilizado como relaxante muscular em anestésias cirúrgicas, a succinilcolina ou suxametônio, é hidrolisado pela butirilcolinesterase e seu efeito farmacológico se manifesta somente enquanto a ação da enzima ainda não foi o suficiente para a depuração de quantidade suficiente da dose administrada. Um paciente que possua a atividade da enzima diminuída apresentará uma redução na velocidade de depuração do medicamento, levando-o a enfrentar um período de apnéia prolongado pelo relaxamento da musculatura respiratória, fazendo-se necessária utilização de ventilação mecânica até que o medicamento seja eliminado. O estudo destes casos deu início à determinação das variantes genéticas da BChE (KALOW, 1959).

Os primeiros alelos identificados no loco *BCHE* foram os da variante usual (*BCHE\*U*), que é o mais comum, carregado por mais de 95% dos indivíduos (WHITTAKER, 1986); da variante atípica (*BCHE\*A*) e da variante resistente ao fluoreto (*BCHE\*F*) que determinam a formação de enzimas com comportamentos diferentes frente a diversos inibidores utilizados nos métodos de investigação.

O loco *CHE2* determina um tipo de variabilidade da BChE ditado pela ligação ou não da enzima a uma substância desconhecida codificada por este loco, que pertence ao braço longo do cromossomo 2 (EIBERG et al., 1989).

A detecção das variantes relacionadas a este loco é feita por uma técnica de eletroforese que determina a presença ou ausência, de uma banda adicional, a C<sub>5</sub>. A presença desta banda determina o fenótipo CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup> e sua ausência, o fenótipo CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup>. Existem relatos de variações da expressividade de C<sub>5</sub> (HARRIS et al., 1963; CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1984; 1991) e também de atividade aumentada da BChE em indivíduos CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup>, quando comparados aos de fenótipo CHE2 C<sub>5</sub><sup>-</sup> (SIMPSON, 1966; SUGIMORI, 1986) devido à ocorrência, nas amostras CHE2 C<sub>5</sub><sup>+</sup> de maior número de moléculas da enzima (ALTLAND et al., 1971).

Kalow e colaboradores descreveram indivíduos saudáveis com respostas prolongadas a succinilcolina que apresentavam, ao invés do tipo usual de BChE, uma variante anormal, denominada por estes autores de “atípica” (KALOW et al., 1956). Esta variante não possui a capacidade de hidrolisar a succinilcolina em doses farmacológicas (KALOW, 1959), levando os pacientes a um quadro de apnéia

prolongada. KALOW e GENEST (1957) demonstraram que diferenças relacionadas com a resistência à inibição pelo anestésico dibucaína, entre a enzima usual e a variante atípica, poderiam ser utilizadas como fator de distinção entre estas variantes e a enzima usual. HARRIS e WHITTAKER (1961) demonstraram que o fluoreto de sódio, semelhantemente à dibucaína, promove inibição diferencial para a enzima usual e para outras variantes da BChE e aplicaram este composto na identificação de outras variantes da enzima.

O estudo de pacientes saudáveis, cujas amostras de plasma careciam totalmente de atividade colinesterásica, levou à descoberta de uma variante enzimática denominada silenciosa, cujas moléculas não apresentam a estrutura necessária para promover a hidrólise das ligações éster da colina (HART e MITCHELL, 1962; LIDELL et al., 1962). No entanto, alguns indivíduos classificados como homozigotos para o fenótipo silencioso, apresentavam alguma atividade colinesterásica plasmática (GUTSCHE et al., 1967), o que levou à conclusão de que existem diversos tipos de variantes silenciosas (RUBINSTEIN et al., 1970; SCOTT e WRIGHT, 1976). Os genes responsáveis pelas variantes silenciosas são alélicos aos das formas usual, atípica e resistente ao fluoreto (SCOTT, 1973; SIMPSON e KALOW, 1964) e também são genes raros (STEEGMÜLLER, 1975).

Três variantes mais estudadas da BChE apresentam ou alterações na atividade catalítica ou alterações em sua síntese e estabilidade, apresentando menor número de moléculas no plasma (PANTUCK, 1993), levando a redução na atividade total da enzima: variante K leva à redução de 33% na atividade colinesterásica plasmática (RUBINSTEIN et al., 1978), a variante J, redução de 66% (GARRY et al., 1976) e a variante H, de 90% (WHITTAKER e BRITTEN, 1987).

Os testes tradicionalmente utilizados na identificação de variantes da BChE, como a inibição por dibucaína e por fluoreto e a medida da atividade plasmática, não são satisfatórios em certos casos que, mesmo apresentando resposta prolongada à succinilcolina, são classificados como fenótipo usual. Isto sugere que existam outras variantes fenotípicas da enzima ainda não reconhecidas (PANTUCK, 1993). Atualmente, técnicas de biologia molecular têm auxiliado na caracterização das variantes da BChE.

### 2.3. ESTRUTURA MOLECULAR DA BUTIRILCOLINESTERASE

A falta de um modelo tridimensional definitivo para a BChE tem sido fator limitante no estudo da enzima e para este fim, tem sido utilizado um modelo baseado na homologia da estrutura da BChE com a estrutura da AChE. AChE e BChE apresentam homologia de 65% na cadeia de aminoácidos, possuem formas moleculares similares e estrutura do centro ativo semelhante, apesar de serem produtos de genes diferentes (MILLARD e BROOMFIELD, 1992). A estrutura molecular da AChE tem sido esclarecida utilizando-se métodos cristalográficos e de raios X, combinados com ligantes específicos e enzimas mutantes e a forma que se tem observado é de uma proteína globular com um centro ativo inserido no interior de uma fenda estreita em forma de garganta, constituindo a entrada do centro ativo (SUSSMAN et al., 1991).

A BChE humana é uma proteína homotetramérica, com 340 kDa e pesadamente glicosilada, apresentando nove cadeias de carboidratos em cada subunidade, que representam 23,9% do peso molecular do monômero (LOCKRIDGE et al., 1979; 1987). As cadeias de oligossacarídeos podem perturbar o processo de cristalização da molécula, já que estas cadeias podem blindar a superfície da proteína e dificultar sua cristalização (NACHON et al., 2002). No entanto, em 2003, NICOLET et al. determinaram a estrutura cristalina da BChE. A glicosilação influencia a estrutura quaternária, a estabilidade, a solubilidade e também a depuração das formas plasmáticas da enzima, protegendo a estrutura da proteólise; estes fatores contribuem para o seu longo tempo de meia vida na circulação sanguínea (SAXENA et al., 1997a; WANG et al., 1996; KRONMAN et al., 1995; 2000). Na AChE, o padrão de glicosilação pode variar de acordo com o tecido, mas não influencia sua capacidade catalítica (LIAO et al., 1992); o mesmo foi observado com a BChE em estudos utilizando a proteína sem as cadeias de oligossacarídeos; DREYFUS et al. (1989) e SOREK et al. (1989) demonstraram que a glicosilação é importante para o transporte da enzima e não para sua atividade catalítica.

O peso molecular do monômero, calculado pela seqüência de aminoácidos é 65,092; HAUPT et al. (1966) demonstraram que as cadeias de carboidratos correspondem a 23,9% da BChE, elevando o peso molecular do monômero a um total de 85,534. O tetrâmero possui um peso molecular de 342,136 e este valor é

aproximado porque o peso das cadeias de carboidratos não é exato. Por eletroforese em poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), LOCKRIDGE et al. (1979) e LOCKRIDGE e LA DU (1986) determinaram os pesos do monômero e dímero em 90,0 e 180,0, respectivamente. Por ultracentrifugação, o peso do monômero foi determinado em 85,0 (MUENSCH et al., 1976) e por filtração em gel de Sephadex, em 81,0 por LA DU e DEWALD (1970) e em 86,0 por BOUTIN e BRODEUR (1971).

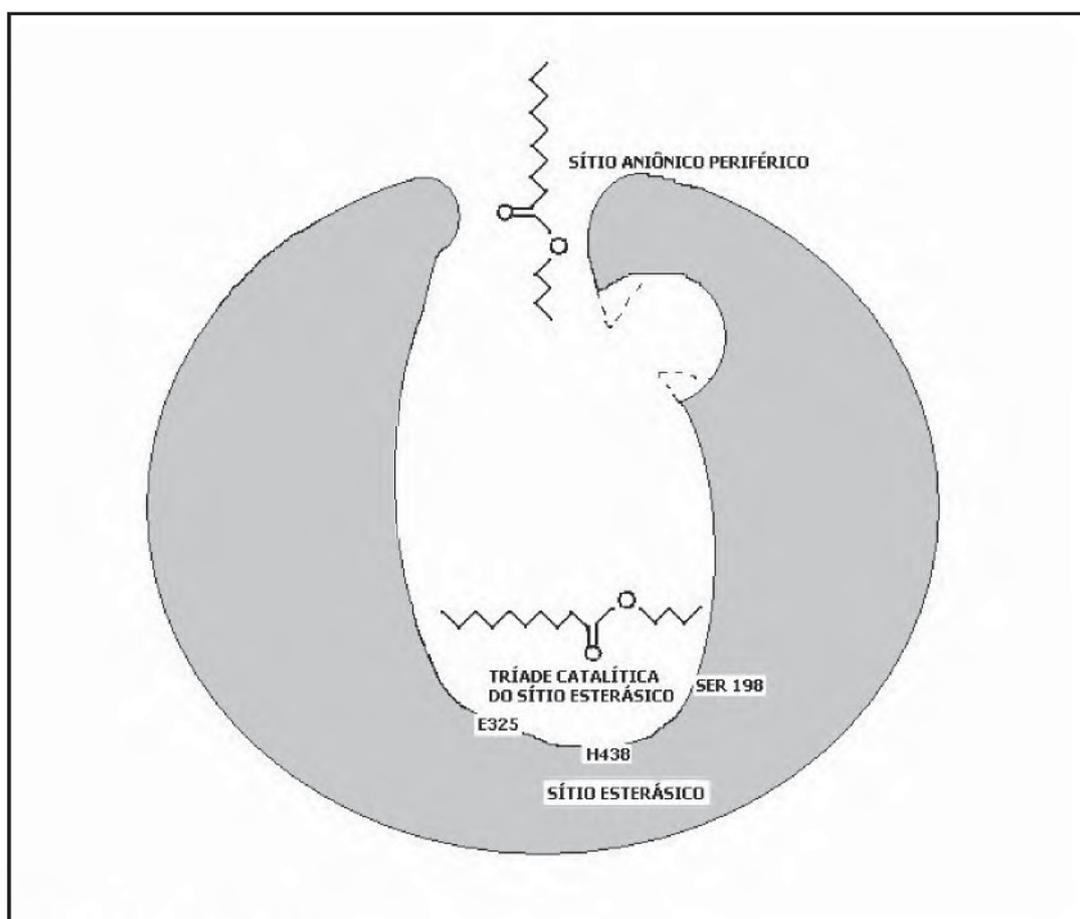
As colinesterases são notáveis pela sua razão de catabolismo, que se aproxima da razão de difusão do substrato, o limite teórico para o catabolismo de qualquer enzima. Modelos de distribuição de carga na estrutura da AChE sugerem que a enzima é um dipolo muito forte, com campos que atraem a carga positiva da acetilcolina para dentro da garganta até o sítio ativo; então, o mesmo campo promove a expulsão do íon acetato, produto final da reação (SCHWARZ et al., 1995). Também foi sugerido que uma porta móvel permite a saída da colina do centro ativo diretamente para o meio, sem a necessidade de passar, em um sentido de volta, pela extensão da garganta (GILSON et al., 1994). No entanto, este aspecto ainda carece de confirmação experimental.

A principal forma da BChE é um tetrâmero hidrossolúvel; cada subunidade consiste em uma proteína de 574 aminoácidos, com três pontes de dissulfeto internas entre Cys65 e Cys92, Cys252 e Cys263 e Cys400 e Cys519 (McQUEEN, 1995) que contribuem para a estrutura terciária da proteína; os monômeros formam dímeros por pontes de dissulfeto entre as cisteínas da posição 571; a função desta ponte de dissulfeto é estabilizar o dímero. Dois dímeros são conectados por fortes ligações não covalentes, formando um tetrâmero (COKUGRAS, 2003). As subunidades monoméricas são idênticas (McQUEEN, 1995).

Em cada monômero, um sítio aniônico periférico está situado na borda da garganta (FIGURA 1). Neste sítio, Asp70 e Tyr332 estão envolvidos na ligação inicial de substratos carregados positivamente, como colina contendo amônio quaternário, e no controle da ativação inicial. A enzima apresenta uma ponte de hidrogênio entre Asp70 e Tyr332, que controla a estrutura funcional da garganta da enzima. Quando um substrato carregado positivamente liga-se à enzima, formando complexo com Tyr332, interage ao mesmo tempo com Asp70 e este processo leva a uma alteração conformacional no monômero, com os dois braços flexíveis em ômega, presentes na

garganta da molécula, se fechando e permitindo que o substrato deslize até Trp82 do sítio de ligação da colina, no centro ativo da enzima. Este ponto foi denominado sítio aniônico, apesar de se saber que este sítio não apresenta resíduo negativo (COKUGRAS, 2003).

FIGURA 1 – ESTRUTURA ESQUEMÁTICA DA MOLÉCULA DO MONÔMERO DA BChE HUMANA



Adaptado de COKUGRAS, 2003.

O substrato sofre reposicionamento rotacional, até a posição horizontal no sítio esterásico da enzima, onde estará pronto para sofrer hidrólise pela tríade catalítica deste sítio composta por Ser198, His438 e Glu325 (SHAFFERMAN et al., 1992).

O volume da garganta na molécula da BChE é maior que na AChE devido ao fato de alguns resíduos de aminoácidos situados na entrada da garganta serem alifáticos na BChE e aromáticos na AChE e este é um dos aspectos responsáveis pelas diferenças na seletividade das enzimas por substratos (SAXENA et al., 1997b).

## 2.4. FORMAS MOLECULARES DA BUTIRILCOLINESTERASE

O polimorfismo da BChE caracteriza-se pelo aparecimento de diversas formas moleculares no plasma; HARRIS et al. (1962) encontraram quatro formas com atividades diferentes, denominadas, em ordem decrescente de acordo com suas mobilidades eletroforéticas, de C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>. HARRIS e ROBSON (1963) relataram que estas formas diferiam entre si quanto aos seus pesos moleculares. SCOTT e POWERS (1972) sugeriram que C<sub>4</sub> fosse composto por um tetrâmero e C<sub>1</sub>, por um monômero. MASSON (1979) descreveu C<sub>3</sub> como um dímero e, mais tarde, C<sub>2</sub> como um monômero associado covalentemente à albumina sérica, denominando-o C<sub>1</sub>-alb (MASSON, 1989).

O maior número de formas moleculares da BChE foi encontrado por JUUL (1968), que determinou a presença no soro, de 12 bandas eletroforéticas. Uma vez que se conhecem quatro formas homólogas, conclui-se que devem existir oito formas heterólogas. Destas, somente a forma C<sub>2</sub>, ou C<sub>1</sub>-alb, possui identificada a substância à qual a enzima está ligada, sendo esta a albumina (revisão em ALCÂNTARA, 2000).

MASSON (1991) propôs que uma nova nomenclatura baseada na estrutura molecular seria mais conveniente que a baseada na mobilidade eletroforética, e recomendou as designações G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e G<sub>4</sub>, de acordo com o número de subunidades monoméricas, para C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, uma vez que estas são formas globulares de monômero, dímero e tetrâmero, respectivamente.

Em eletroforese em gel de poliácridamida, o monômero (G<sub>1</sub>) move-se mais rapidamente, sendo seguido pelo conjunto monômero ligado à albumina (G<sub>1</sub>-alb), pelo dímero (G<sub>2</sub>) e pelo tetrâmero (G<sub>4</sub>). Em 1991, MASSON observou uma fração eletroforética adicional, posicionada entre G<sub>2</sub> e G<sub>4</sub> e demonstrou que esta se constitui em um trímero, denominando-o G<sub>3</sub>; este é formado progressivamente, pela ação de proteases, a partir do tetrâmero (SAEED, 1971). HARRIS e colaboradores (1962) determinaram a presença de uma banda de mobilidade lenta, localizada atrás de C<sub>4</sub>, que denominaram C<sub>5</sub>. Sabe-se que esta banda é um oligômero heterólogo formado pela ligação da BChE a uma proteína polimórfica ainda não conhecida (MASSON, 1991), determinada pelo loco *CHE2* (EIBERG et al., 1989). SOUZA (1995) descreveu uma forma supostamente heteromérica da BChE, denominada

C<sub>4/5</sub>, ligada a uma substância também desconhecida, e que está presente em todos os indivíduos (SOUZA et al., 2003).

As formas G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e G<sub>4</sub> são parcialmente interconversíveis e as formas G<sub>1</sub> e G<sub>3</sub> podem ser frações de degradação ou precursoras de G<sub>4</sub> (LA MOTTA et al., 1968; MASSON, 1979). Entretanto, o processo de construção das formas moleculares naturais da BChE permanece ainda desconhecido (MASSON, 1989).

Além das formas discutidas acima, outras têm sido descobertas a partir de estudos em populações específicas, mostrando padrões característicos, como bandas adicionais, de comportamento eletroforético diferente e atividade enzimática variável, podendo ser maior ou menor que as bandas comuns à maioria da população (VAN ROS e DRUET, 1966; ASHTON e SIMPSON, 1966; NEITLICH, 1966; GALLANGO e ARENDS, 1969; YOSHIDA e MOTULSKY, 1969; YAMAMOTO et al., 1986; 1987).

## 2.5. PESQUISAS RELACIONADAS ÀS ISOENZIMAS DA BChE

Diversas pesquisas têm sido realizadas tendo como objeto as diversas formas isoenzimáticas da BChE, diferenciando-se basicamente em seus objetivos, mas apresentando também resultados amplamente variados.

Os métodos utilizados nestas pesquisas baseiam-se em procedimentos de separação eletroforética por gradiente de gel de poliacrilamida. As metodologias laboratoriais utilizadas nas pesquisas variam de acordo com os objetivos das pesquisas e com o tipo de amostra biológica com que se está trabalhando, sendo, além da eletroforese, também utilizados métodos de eluição da enzima por tampões salinos a partir de amostras de tecidos, seguidos de separação de suas formas moleculares em colunas iônicas e métodos de centrifugação com gradiente de densidade.

Curiosamente, os resultados obtidos em relação ao número de isoenzimas variam bastante. Algumas pesquisas encontraram 4 formas isoenzimáticas (NOVACEK et al., 1996; MASSON, 1979; CHIU et al., 1972), outras 4 a 5 formas (LEMBERG et al., 1981), 7 (HADA et al., 1985), 8 (KORENOVSKY et al., 1990) e 12 formas isoenzimáticas (JUUL, 1968). Uma publicação mostrou como resultado 20

formas isoenzimáticas (YAMANADA et al., 1993), porém esta pesquisa não procurou diferenciar as subclasses de colinesterases e provavelmente dentro deste grupo de 20 formas, estão presentes AChE e BChE. Este tipo de abordagem do estudo das colinesterases tem se mostrado freqüente nos estudos relacionados a intoxicações por organofosforados.

Um dos principais objetivos das pesquisas tem sido a tentativa de relacionar as alterações nas atividades e freqüências das isoenzimas de BChE com doenças hepáticas, como hepatites agudas, cirrose e tumores hepáticos primários e secundários (LEMBERG et al., 1981; KARLINSKI et al., 1991; DEUTSCH e CAMPBELL, 1984; HADA et al., 1988); também vêm sendo amplamente estudadas as variações enzimáticas em doenças neuropsiquiátricas (ARENDDT et al., 1992; DEUTSCH e CAMPBELL, 1984) e neurológicas (LYLES et al., 1980) e outras patologias, como doença de Crohn (NOVACEK et al., 1996).

Freqüentes também são os trabalhos relacionados ao uso de medicamentos (KORENOVSKY et al., 1990) e especialmente, à exposição a compostos organofosforados, utilizados tanto como inseticidas quanto como armas químicas (YAMANADA et al., 1993).

Outras publicações relacionam as isoenzimas de BChE com lipoproteínas (UDOM et al., 1989); buscam encontrar um padrão de alterações fisiológicas associadas a AChE e relacionadas à evolução embrionária (SMUCKER e WILSON, 1990); procuram fazer um “mapeamento” da distribuição das isoenzimas em tecidos sob condições normais e patológicas (GOMEZ et al., 2000; FRIEDRICH et al., 1994; ORTONNE et al., 1979); ou ainda apresentam estudos de casos de hipercolinesterasemia familiar, com algumas famílias apresentando bandas extras características (HADA et al., 1985; YAMAMOTO et al., 1986).

## 2.6. FUNÇÕES DA BUTIRILCOLINESTERASE

Criaram-se diversas teorias para explicar a função fisiológica da BChE afirmando, por exemplo, que sua presença seria necessária em situações de intensa atividade muscular, onde as concentrações de acetilcolina seriam suficientes para inibir a AChE (LEHMANN e SILK, 1953); que seria responsável pelo metabolismo de

ésteres de colina tóxicos resultantes do metabolismo lipídico intestinal (CLITHEROW et al., 1963); que faria a manutenção de níveis adequados de colina para fins sintéticos (FUNNEL e OLIVER, 1966) ou que faria o controle fisiológico da substância P (LOCKRIDGE, 1982). No entanto, a presença de BChE em tecidos que não possuem inervação colinérgica leva a crer que a enzima apresenta funções diferentes, além da hidrólise da acetilcolina (JAGNATHAN e BOOPATHY, 2000). No entanto, alguns pacientes mesmo não apresentando qualquer atividade sérica de BChE, não possuem qualquer manifestação problemática que possa ser relacionada a este fato, o que leva a crer que a enzima certamente possui uma função um pouco mais sutil que as defendidas pelas hipóteses citadas ou que estes pacientes apresentam um mecanismo compensatório ainda desconhecido.

A atividade da BChE tem sido correlacionada com os níveis séricos de CT, TG e especialmente com o logaritmo de TG (CUCUIANU et al., 1968), além de LDL (KUTTY, 1972; WAY et al., 1975), o que poderia indicar uma função estabilizadora na composição das lipoproteínas ou que funcionaria como um cofator na conversão de VLDL para moléculas lipoprotéicas de maior densidade (KUTTY et al., 1977).

LAWRENCE e MELNICK (1961) sugeriram que lipoproteínas séricas formam um complexo instável com a BChE, e que a estrutura formada funcionaria como carreador da enzima em seu estado inativo na circulação. Este complexo é considerado como resultado de união física da enzima com as lipoproteínas, já que pode ser facilmente dissociado por métodos físicos, fato reforçado pelos dados de DUBBS (1966), que demonstraram a elevação dos níveis de atividade da BChE após o tratamento de amostras de plasma humano com ultra-som. Assim, é clara a relação entre a BChE e as lipoproteínas (KUTTY et al., 1975; 1977), no entanto, permanece necessária a confirmação quanto à sua função em relação à estrutura das lipoproteínas, se seria sintética ou estrutural.

CLITHEROW et al. (1963) propuseram que a butirilCoA produzida durante o metabolismo hepático de ácidos graxos pode, na presença de colina, formar butirilcolina, produto com intensa atividade nicotínica que, quando não depurado adequadamente, tem grande probabilidade de resultar em efeitos tóxicos. A função da BChE, segundo estes autores, seria a hidrólise da butirilcolina em seu sítio de formação, permitindo que os produtos resultantes retornem às suas respectivas vias metabólicas, amenizando seus efeitos tóxicos. BALLANTYNE (1968) sugeriu um

mecanismo semelhante para a BChE nos adipócitos. No entanto, o fato de ainda não ter sido encontrada butirilcolina ou outra acilcolina solúvel no soro de mamíferos apresenta-se como objeção a estes pressupostos.

Diversos estudos fazem relação entre BChE, metabolismo lipídico anormal e assimilação de alimentos. Nestes casos, os pacientes apresentam usualmente níveis elevados de VLDL, caracterizando o tipo de hiperlipoproteinemia relacionada com síntese aumentada de triglicérides no fígado, em consequência do excesso de ácidos graxos provenientes do metabolismo lipídico ou do transporte implementado a partir dos adipócitos, o que resulta em um “turnover” aumentado de ácidos graxos (FREDRICKSON e LEE, 1965).

Como não se chegou ainda a um consenso quanto à sua função fisiológica, o principal interesse das medidas laboratoriais da BChE tem sido sua relação com o relaxante muscular succinilcolina e com quadros de intoxicações.

## 2.7. CORRELAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS DA BUTIRILCOLINESTERASE

Vários fatores têm sido associados com variações na atividade da BChE; entre os que determinam sua diminuição encontram-se, por exemplo, os estrógenos (SIDELL e KAMINSKIS, 1975) e, entre os que se relacionam ao seu aumento, o diabetes mellitus (CUCUIANU et al., 2002), a hiperlipoproteinemia e a obesidade (revisão em KUTTY, 1980) e a hiperuricemia (KARIO e MATSUO, 1991).

Como a BChE sérica tem sua síntese no fígado, qualquer situação que promova diminuição da atividade sintética hepática trará como consequência redução na atividade da enzima, como por exemplo, cirrose e hepatite (SINGH et al., 1976), doenças malignas (GHOOI et al., 1980), doença renal crônica (YANAI e HOSHINO, 2001) e dengue (DJOJODIBROTO et al., 1978).

Diversos autores têm relatado associação física da BChE com lipoproteínas, como lipoproteínas de baixa densidade, LDL (LAWRENCE e MELNICK, 1961; KUTTY e ACHARYA, 1972; KUTTY et al., 1973; 1975; 1977; RYHÄNEN et al., 1982) e lipoproteínas de alta densidade, HDL (RYHÄNEN et al., 1982); relação positiva com concentração de triglicérides (CUCUIANU et al., 1975; CROOK et al., 1994; ALCÂNTARA et al., 2002), colesterol (MAGARIAN e DIETZ,

1987; ALCÂNTARA et al., 2002) e apolipoproteína B (CROOK et al., 1994; ALCÂNTARA et al., 2002). CUCUIANU et al. (1975) e MAGARIAN e DIETZ (1987) relacionam a BChE com uma função na produção de VLDL e LDL.

A atividade da BChE está positivamente relacionada com peso corporal em adultos (SIMPSON, 1966; CUCUIANU et al., 1968; STUEBER-ODEBRECHT et al., 1985; BROCK e BROCK, 1990). Médias significativamente menores de peso corporal (CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1991) e de índice de massa corporal, IMC (ALCÂNTARA et al., 2001), foram demonstradas em indivíduos CHE2 C5+, com intensa atividade da banda C<sub>5</sub>, quando comparados aos seus controles CHE2 C5-.

PAVKOVIC et al. (1993) relataram atividade levemente aumentada de BChE em pacientes com tolerância prejudicada à glicose ou diabetes mellitus tipo 2, em relação aos pacientes que apresentam somente um quadro de hiperlipidemia.

CIPRIANI (1999) encontrou correlação positiva entre IMC, monômero e trímero da BChE e relação negativa entre IMC e dímero, o que leva a crer que nos indivíduos obesos, ocorre maior degradação do tetrâmero formando como subprodutos monômero e trímero e dificultando a formação de dímero. Também observou que nos indivíduos obesos, a proporção de G<sub>1</sub>-alb é menor (73%) que nos não obesos (100%).

Em ratos com DM induzido, utilizados como modelo para estudos da doença, observou-se aumento da ABChE, triglicérides e glicerol; a utilização de insulina nestes modelos reduziu estes índices e a utilização de um inibidor específico para BChE, levou à redução de LDL, triglicérides, glicerol e glicose. Conclui-se que a BChE tem papel pivô no metabolismo lipídico anormal e possivelmente, no metabolismo de carboidratos no DM. Existe a hipótese que a síntese e secreção de BChE hepática, sofre controle inibitório pela insulina e que este controle se perderia na deficiência relativa de insulina, como no DM tipo 1, e na insensibilidade à insulina, como no DM tipo 2, levando a um aumento na ABChE, o que resultaria em hipertrigliceridemia (ANNAPURNA et al., 1991).

## 2.8. DIABETES MELLITUS

Segundo o Consenso Brasileiro sobre Diabetes (MILECH et al., 2001) o termo diabetes mellitus envolve um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia em consequência de defeitos na secreção de insulina, na ação deste hormônio sobre o organismo ou em ambos os aspectos. Diversos processos patogênicos estão envolvidos na instalação do quadro diabético, e vão desde dano de células  $\beta$  do pâncreas, responsáveis pela secreção de insulina, com consequente diminuição no hormônio, até perda de sua eficácia biológica sobre os tecidos alvos, levando a alterações nos metabolismos de carboidratos, gorduras e proteínas. Em certos pacientes, a deficiência na secreção de insulina coexiste com sua ineficácia sobre o organismo.

Antes do surgimento de hiperglicemia mantida, acompanhada de quadro clínico clássico de DM, a síndrome passa por um estágio de distúrbio do metabolismo da glicose, caracterizado por valores glicêmicos situados entre a normalidade e a faixa diabética (WHO, 1999). O diagnóstico precoce da doença é particularmente importante, com a finalidade de se dar início ao tratamento, com especial atenção às mudanças no estilo de vida, como adequação da dieta, regularidade na prática de exercícios físicos, abstenção do fumo e moderação no uso de bebidas alcoólicas, aspectos que se fazem especialmente necessários porque o perfil glicêmico sofre piora inexorável e progressiva após a instalação de DM, mesmo com o uso de agentes antihiperglicemiantes (MILECH et al., 2001).

### 2.8.1. Classificação do diabetes mellitus

O diabetes mellitus é classificado em dois grupos principais, de acordo com sua etiopatogenia, tipo 1 (DM1) e tipo 2 (DM2).

No DM1 a causa primária é a destruição das células  $\beta$  pancreáticas, em consequência de um processo autoimune ou idiopático e, no DM2 a causa é uma

combinação de resistência periférica à ação da insulina e de resposta compensatória inadequada da secreção deste hormônio, em graus variáveis (MILECH et al., 2001).

Ainda são categorizadas outras formas de DM, como diabetes gestacional e outros tipos diferenciados especialmente por suas causas (TABELA 1).

TABELA 1. Classificação do diabetes mellitus

Tipo 1. Causa: destruição da célula $\beta$ geralmente ocasionando deficiência absoluta de insulina, de natureza autoimune ou idiopática.
Tipo 2. Causa: varia de uma predominância de resistência insulínica com relativa deficiência de insulina, a um defeito predominantemente secretório, com ou sem resistência insulínica
Outros tipos específicos: Defeitos genéticos da célula $\beta$ Defeitos genéticos na ação da insulina Doenças do pâncreas exócrino Endocrinopatias Induzidos por fármacos e agentes químicos Induzidos por infecções Formas incomuns de diabetes imunomediados Outras síndromes genéticas geralmente associadas ao diabetes
Diabetes gestacional

Fonte: (MILECH et al., 2001).

### 2.8.2. Aspectos metabólicos do diabetes mellitus

A evolução até um estado hiperglicêmico mantido ocorre em período de tempo variável e passa por estágios intermediários, denominados “glicemia de jejum alterada” (glicemia de jejum superior a 110 mg/dL e inferior a 126 mg/dL) e “tolerância à glicose diminuída” (glicemia de jejum inferior a 126 mg/dL e glicemia duas horas após ingestão de 75 g de glicose entre 140 e 200 mg/dL). Estes estágios ocorrem em todos os tipos de DM, mas no DM1 o período entre os estágios é mais curto. DM instalada caracteriza-se por glicemia de jejum superior a 126 mg/dL e glicemia após ingestão de 75 g de glicose superior a 200 mg/dL.

Em longo prazo, a hiperglicemia leva a lesão renal, retinopatia, neuropatia periférica, alterações gastrointestinais, genitourinárias e cardiovasculares, e disfunções sexuais (MILECH et al., 2001). A doença vascular aterosclerótica é um

importante aspecto no prognóstico de pacientes com DM2 (ZIMMET, 1992; BIERMAN, 1992) e alto índice de gordura visceral constitui-se em um dos principais fatores relacionados com intolerância à glicose e com o desenvolvimento de doença coronariana (FUJIOKA et al., 1987; BERGSTROM et al., 1990), sendo contribuinte no acúmulo de fatores de risco para DM (NAGARETANI et al., 2001) e na deterioração do perfil lipêmico (PASCOT et al., 2000).

A maioria dos pacientes DM2 apresenta excesso de peso, sendo que a obesidade, quando presente em adulto jovem, tem sido positivamente relacionada com o desenvolvimento de DM2 subsequente (COLDITZ et al., 1990; CHAN et al., 1994). Outros fatores prognósticos de diabetes são hiperinsulinemia, hipertensão, dislipidemia com valores plasmáticos baixos de HDL-C e altos de triglicérides (MAISON et al., 2001).

A doença arterial coronariana (DAC) é o principal aspecto responsável pela redução da sobrevida de pacientes portadores de DM, constituindo a principal causa de mortalidade nestes pacientes (PANZRAM, 1987). Este envolvimento de DAC e de outras doenças vasculares na mortalidade em indivíduos diabéticos está relacionado com o estado diabético e à soma de fatores diversos de risco cardiovascular, como obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia. A dislipidemia é fator que apresenta maior influência no risco cardíaco em pacientes diabéticos (LEHTO et al., 1997) e caracteriza-se, mais freqüentemente por hipertrigliceridemia, HDL-C baixo e presença de LDL pequena e densa (MILECH et al., 2001).

A hipertensão arterial mostra características diferentes no DM1 e no DM2. Nos pacientes DM2, é componente da síndrome metabólica, presente em cerca de 50% destes indivíduos no momento do diagnóstico. Já nos DM1, aparece tardiamente, geralmente em consequência da deterioração da função renal (MILECH et al., 2001).

Estes e outros aspectos constituem fatores de risco para DM e são apresentados na TABELA 2.

TABELA 2. Fatores de risco para o diabetes mellitus

Idade superior ou igual a 45 anos
História familiar de DM (pais, filhos e irmãos)
Excesso de peso (IMC maior ou igual a 25 kg/m <sup>2</sup> )
Sedentarismo
HDL-C baixo ou TG alto
Hipertensão arterial
Doença coronariana
DM gestacional prévio
Macrossomia ou história de abortos de repetição ou mortalidade perinatal
Uso de medicação hiperglicemiante (por exemplo, corticosteróides, tiazídicos, beta-bloqueadores)

Fonte: (MILECH et al., 2001).

## 2.9. ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS

A antropometria fornece meios de fácil acesso, baratos, não invasivos e de aplicabilidade universal para a avaliação do volume, proporções e composição do corpo humano, que refletem o estado de saúde e nutricional do indivíduo e podem prever condições de performance física, saúde e sobrevivência em diversas situações de doença ou não, sendo portanto, instrumento de grande validade nas tomadas de decisões clínicas. É reconhecido que o acúmulo de gordura visceral ou gordura central, é o maior determinante de doenças relacionadas à obesidade e grande parte das evidências epidemiológicas deste fato provém de medidas antropométricas indicadoras de obesidade, da distribuição de gordura e de sua implicação no acúmulo de gordura visceral (SEIDELL e BOUCHARD, 1997). No entanto, nenhum parâmetro antropométrico isolado tem sido universalmente aceito como superior aos demais para avaliar o risco metabólico associado à obesidade abdominal.

São medidas da gordura corporal geral, peso, índice de massa corporal (IMC, dado pela razão entre o peso e o quadrado da altura) e porcentagem de gordura corporal. São medidas da distribuição de gordura central: circunferência da cintura (CC), razão entre as circunferências da cintura e do quadril (RCQ), razão entre as circunferências da cintura e da coxa (RCC) e razão entre a circunferência da cintura e a altura (CALT).

A faixa de normalidade para IMC é bastante ampla e alguns indivíduos incluídos nestes valores podem apresentar excessivo acúmulo central de gordura e elevado risco metabólico, criando uma problemática relativa à avaliação no risco de

doença relacionado à obesidade. HSIEH et al. (2003) sugeriram que CALT é um índice efetivo para avaliação da distribuição de gordura central e pode ser empregado para a identificação de indivíduos com alto risco metabólico, porém dentro da faixa de normalidade e também na faixa de sobrepeso de IMC, uma vez que dentre todos os índices investigados, CALT foi o que melhor sinalizou o risco metabólico nestes indivíduos, podendo ser utilizado um único valor de corte tanto para homens quanto para mulheres. Indivíduos com CALT superior ou igual a 0,5, mesmo com peso normal, demonstraram correlação significativamente maior para o acúmulo de dois ou mais fatores de risco coronarianos, outros riscos metabólicos e vida sedentária que aqueles com CALT inferior a 0,5 (HSIEH e MUTO, 2004).

IMC e CALT são largamente utilizados como índices de obesidade para avaliação de risco de diabetes e doença arterial coronariana (DAC). Baixa estatura em adultos foi relacionada com diabetes e acidentes vasculares; CC se mostrou importante na avaliação da obesidade visceral e a associação das duas medidas, no índice CALT, fornecem um importante preditor de diabetes e hipertensão. As médias dos valores de IMC, RCQ e CALT para indivíduos diabéticos e hipertensos são significativamente maiores para ambos os sexos sendo maior o nível de significância para CALT. Os valores de IMC, RCQ e CALT mostram-se correlacionados com pressão arterial sistólica e diastólica, glicemia de jejum, CT e TG, sendo o maior índice de correlação pertencente ao CALT também nestes casos. Conclusivamente, CALT é um índice de obesidade particularmente valioso na predição de diabetes, hipertensão e lipídemia (SAYEED et al., 2003). A importância das medidas de distribuição corporal de gordura na avaliação do risco de diabetes pode variar com a idade e a origem étnica e a maioria dos estudos tem relacionado o efeito da gordura corporal no risco de diabetes em populações caucasianas de meia idade e idosos (TULLOCH-REID et al., 2003). No entanto, em pacientes com mais de 65 anos, estes dados perdem parte da significância (HUANG et al., 2002) e os valores dos índices tornam-se mais limitados, principalmente devido ao acúmulo progressivo de gordura central que, naturalmente ocorre com o avanço da idade (MOLARIUS et al., 2000).

Pacientes com DM2 mostram-se mais obesos e apresentam maiores valores de RCQ quando comparados a não diabéticos. Diabéticos apresentam maiores médias das circunferências da cintura e menores do quadril,

independentemente de seu grau de obesidade (medido pelo IMC), de sua idade e de seu estilo de vida (uso de álcool e fumo, graus de atividade física e educacional) e uma das possibilidades de explicação para este fato é que, além da obesidade abdominal, ocorre atrofia muscular periférica associada ao DM2 (SEIDELL et al., 1997).

Para o cálculo do Índice de Massa Corporal utiliza-se o Índice de Quetelet (peso em Kg/ altura<sup>2</sup> em m). Os valores de corte para IMC na predição de DM, hipertensão ou dislipidemia variam de 25,2 a 26,6 kg/m<sup>2</sup> em homens e mulheres (BERBER et al., 2001). Na utilização do RCQ, valores inferiores ou iguais a 0,95 para homens e 0,80 para mulheres caracterizam obesidade do tipo ginecóide e valores superiores, do tipo andróide, que caracteriza a obesidade central (BRAY et al., 1998).

## 2.10. LIPOPROTEÍNAS E RISCO METABÓLICO

A obesidade visceral também tem se mostrado um fator agravante no risco de DAC em pacientes DM1, e para a avaliação da influência deste tipo de obesidade nestes pacientes e também em pacientes não diabéticos, mas com síndrome metabólica, o logaritmo do triglicéride (logTG) tem mostrado bastante utilidade apresentando relação positiva com IMC e pressão diastólica (SIBLEY et al., 2003).

A lipoproteína de baixa densidade, ou LDL, é a principal forma de transporte de colesterol no sangue e basicamente está constituída de uma carga de colesteril-éster, revestida por proteínas e fosfolípidos, sendo a apolipoproteína B 100 (Apo B 100 ou simplesmente Apo B) seu principal componente protéico (PACKARD, 2003). No homem, existe um espectro de partículas de LDL, diferindo entre si quanto ao tamanho, densidade, composição química, comportamento metabólico e aterogenicidade (WATSON et al., 1994). Esta heterogeneidade da LDL é resultado dos múltiplos caminhos metabólicos pelos quais estas moléculas são produzidas (BERNEIS e KRAUSS, 2002). Portanto, a LDL constitui-se de fato na soma de diferentes tipos de partículas, com diferentes padrões de composição para cada indivíduo.

Por conveniência, muitos autores utilizam os termos grande, intermediária e pequena para designar as partículas que compõem os três maiores grupos da LDL. As partículas são classificadas de acordo com suas densidades em LDL-I (grande), com densidade variando entre 1.019 e 1.033 g/mL; LDL-II (intermediária), com faixa de densidade de 1.034 a 1.044 g/mL e LDL-III (pequena), com densidade entre 1.044 e 1.063 g/mL (GRIFFIN et al., 1994; ANBER et al., 1996).

A análise das propriedades destes grupos levou à observação que as partículas menores e mais densas representam uma fração particularmente mais aterogênica da população de LDL (PACKARD, 2003). Esta fração liga-se mais fracamente aos receptores de LDL associados ao catabolismo da lipoproteína, em comparação às frações maiores, trazendo como consequência o prolongamento do seu tempo de permanência no plasma (NIGON et al., 1991); contribui também para este comportamento o fato deste grupo de partículas se associar mais intensamente aos proteoglicanos da parede das artérias, com aumento do tempo que a partícula passa no espaço subendotelial arterial, o que leva à inibição da depuração da LDL a partir do plasma (ANBER et al., 1996). É possível que estas alterações funcionais sejam resultado do fato de a Apo B adotar, neste tipo de partícula, uma conformação diferente da adotada nas frações maiores e menos densas (SKALEN et al., 2002). A ligação aos proteoglicanos das paredes arteriais, pode iniciar a deposição de colesterol nas artérias (ANBER et al., 1996) e somando-se a isso, foi demonstrado que a LDL pequena e densa é a subfração mais facilmente oxidável, o que eleva seu potencial aterogênico, uma vez que estas modificações oxidativas também têm sido implicadas na seqüência de eventos que leva à formação de ateromas (TRIBBLE et al., 1992).

Estudos por eletroforese demonstraram que ocorre, em cada indivíduo, um padrão com o predomínio de um tipo de partícula, ou LDL-I ou LDL-III, constituindo os padrões A e B de LDL, respectivamente (REAVEN et al., 1993). Um padrão comum em muitos indivíduos e denominado fenótipo lipoprotéico aterogênico, é caracterizado pela presença de partículas de LDL pequenas e densas em concentração superior a 100 mg/dL, hipertrigliceridemia e HDL-C diminuído; sugere-se que este padrão apresente alto poder aterogênico pelas características danosas da LDL-III (BERNEIS e KRAUSS, 2002).

O quadro do fenótipo lipoprotéico aterogênico é consistente com as características da resistência à insulina, como alterações nas concentrações plasmáticas de triglicérides e HDL-C, além de hiperglicemia em jejum. O diâmetro da partícula de LDL também apresentou correlação inversa com glicemia de jejum, glicemia em resposta à ação da insulina e pressão arterial (REAVEN et al., 1993).

Portanto, o risco de DAC eleva-se não somente pelo conteúdo total de LDL plasmática, mas também pela natureza qualitativa das LDL (PACKARD, 2003). A predominância de LDL-III leva a um aumento de 3 a 7 vezes no risco de DAC, independentemente da concentração de colesterol total (GRIFFIN et al., 1994; BERNEIS e KRAUSS, 2002). LDL-III também se encontra elevada em pacientes com diabetes e doença renal (PACKARD, 2003) e o fenótipo lipoprotéico aterogênico foi adicionado à lista de fatores cruciais que compõem a síndrome metabólica (REAVEN et al., 1993).

Uma chave para entender as condições metabólicas que levam à geração de partículas de LDL pequenas e densas, é o fato de elas aparecerem em indivíduos que são hipertrigliceridêmicos, possuem concentrações plasmáticas baixas de HDL-C, e altas de Apo B. A elevação da concentração plasmática de triglicérides funciona como um gatilho para a formação de LDL-III, a partir da VLDL. Outro fator, é a estimulação da enzima lipase hepática (LH), que se correlaciona positivamente com a LDL-III por ser responsável pela hidrólise de triglicérides das LDL e das HDL (WATSON et al, 1994). A atividade desta enzima é maior nos homens sendo quase o dobro da atividade observada nas mulheres, provavelmente pelos efeitos inibitórios do estrogênio na expressão da enzima. Isto pode explicar diferenças entre os sexos quanto à prevalência dos padrões de LDL (PACKARD, 2003). Estudos com mulheres grávidas demonstraram que as concentrações de LDL aumentam quando o TG chega a 120 mg/dL, mas refletindo elevação na LDL intermediária; quando a concentração de TG ultrapassa 120 mg/dL, o LDL total não se eleva mais, no entanto ocorre uma queda na fração de LDL-II e uma elevação na LDL-III. Portanto, nota-se a existência de um limiar de concentração de TG, de 120 mg/dL, abaixo do qual a LDL-III praticamente inexistente, mas quando ultrapassado, acarreta a formação abrupta de LDL-III (SATTAR et al., 1997). Na população normal, uma elevação no TG, refletido na concentração de VLDL, é consequência da diminuição da depuração de lipoproteínas do plasma, enquanto na população diabética, a elevação de TG é

conseqüência de aumento da produção direta de VLDL (PACKARD et al., 2000; MALMSTROM et al., 1997); no entanto, não importando o que cause a elevação da VLDL, seu aumento cria as condições para a formação de LDL pequena e densa. A lipólise de partículas de VLDL e IDL mais carregadas de TG presentes nestas condições, leva à formação de partículas de LDL na faixa de densidade em que apresentam maior tempo de permanência na circulação (aproximadamente cinco dias), comparadas com LDL provenientes de VLDL e IDL menores, e menos carregadas de TG, que apresentam tempo de permanência menor (cerca de dois dias). Isto demonstra que a concentração de partículas de LDL mais lentamente metabolizadas correlaciona-se fortemente como nível de TG plasmático (PACKARD e SHEPHERD, 1997).

É comprovada a associação entre o tamanho das partículas tanto de LDL quanto de HDL com a concentração de TG e de HDL-C, isto é, quanto maior a concentração de TG e menor a de HDL-C, menores serão as partículas das lipoproteínas e vice-versa. Portanto, a avaliação da relação entre estas concentrações, obtidas na rotina comum de laboratório clínico, pode ser utilizada como um parâmetro simples e de fácil cálculo para o acesso ao grau de aterogenicidade das lipoproteínas plasmáticas. DOBIASOVA e FROHLICH (2001) criaram o termo índice aterogênico do plasma ao proporem que a razão TG/HDL-C e principalmente seu logaritmo ( $\log TG/HDL-C$ ) apresentam significativa correlação com o tamanho da partícula de LDL e conseqüentemente podem ser utilizados como marcador de risco para DAC. Em um estudo com pacientes portadores de resultados angiográficos positivos, FROHLICH e DOBIASOVA (2003) demonstraram que o  $\log TG/HDL-C$  é melhor indicador de lesão coronariana instalada que simplesmente a relação TG/HDL-C.

Na avaliação do risco cardíaco, evidenciou-se muito o papel do CT. No entanto, recentemente, discutiu-se o papel do TG como fator de risco independente para DAC. Em uma relação com a concentração de HDL-C, no índice TG/HDL-C o TG mostrou-se um excelente preditor de doença cardíaca futura, dando informação mais acurada quanto ao risco de DAC, do que podem fornecer as medidas de TG e HDL-C isoladamente (GOTTO, 1998).

O índice CT/HDL-C é um fator preditivo poderoso para o acesso ao risco cardíaco mesmo quando avaliado independentemente de outros fatores de risco

conhecidos (SHAI et al., 2004), sendo especialmente útil na avaliação de risco para DAC em pacientes sob medicação (LEU et al., 2004).

Uma vantagem prática do uso do  $\log\text{TG}/\text{HDL-C}$ , é que ele varia de valores negativos a positivos, tendo como zero, o valor adotado como limiar entre os padrões A e B do perfil de LDL. Enquanto indivíduos com baixo risco cardíaco apresentam valores negativos, aqueles com alto risco apresentam valores positivos; sendo o aumento do risco representado por aumento progressivo dos valores de  $\log\text{TG}/\text{HDL-C}$  (DOBIASOVA e FROHLICH, 2001).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Observar se existem correlações das bandas de menores pesos moleculares da BChE, definidas eletroforéticamente como monômero, monômero ligado à albumina, dímero e trímero, com quadros de diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 e verificar as atividades destas bandas na doença.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a frequência do fenótipo CHE2 C5+ na população diabética estudada.

Analisar a atividade total de BChE (ABChE) e as atividades relativas (AR = intensidade das bandas) e absolutas (AA = AR multiplicada por ABChE) de cada uma das bandas de menor peso molecular da enzima em pacientes portadores de DM1 e DM2, verificando seus valores médios, seus desvios padrões e suas amplitudes de variação.

Comparar os dados obtidos para os pacientes DM1 com os DM2 e de ambos com controles não diabéticos. Caso haja falta ou surgimento de alguma(s) banda(s) nestes pacientes, verificar sua(s) frequência(s).

Determinar se existem correlações entre a atividade total e/ou das atividades das bandas com idade, sexo, raça, dados antropométricos e com alguns parâmetros bioquímicos obtidos das amostras em análise.

Observar, em segunda coleta de amostras, após  $6 \pm 2$  meses de tratamento, as alterações nos parâmetros estudados, utilizando como indicador da eficiência do tratamento, dosagem de hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>).

Realizar as análises expostas acima nos fenótipos CHE2 C5+ e CHE2 C5– separadamente, e também comparar os resultados dos dois grupos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. MATERIAL

Amostras de sangue de 104 pacientes com média de idade de  $24,3 \pm 7,1$  anos (61,5% de mulheres e 72% de euro-brasileiros – sendo os demais 28% afro-brasileiros) portadores de DM1 e de 147 pacientes com média de idade de  $55,2 \pm 11,4$  anos (66,0% de mulheres e 42,0% de euro-brasileiros) portadores de DM2, coletadas após jejum mínimo de 12h; com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético – 3,0 mL, para determinação de HbA<sub>1c</sub>) e sem anticoagulante (5,0 mL, para as demais determinações bioquímicas) obtidas no ano de 2002. As determinações no soro foram processadas imediatamente após a coleta e as amostras foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  no Laboratório de Pesquisa em Bioquímica Clínica das UFPR – Campus Botânico. Estas amostras provêm de participantes dos programas de acompanhamento do Ambulatório de Diabetes do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, Paraná, constituindo população sob atendimento do Sistema Único de Saúde (SUS) proveniente de Curitiba e Região Metropolitana de Curitiba, de outros municípios do Paraná e de outros estados brasileiros.

Amostras de sangue de 182 indivíduos, denominadas controles (C), com média de idade de  $37,7 \pm 15,7$  anos (59,0% de mulheres, sem dados completos sobre raça, mas predominando euro-brasileiros), não diabéticos, com índice de massa corporal normal e sem história pregressa de patologias metabólicas, renais e cardiovasculares, coletadas sem anticoagulante após jejum de, no mínimo 12h, provenientes de voluntários de Curitiba e outros municípios do Paraná. Destes indivíduos controles, não foram obtidos dados antropométricos.

As amostras foram pareadas por sexo e idade, uma vez que tem sido relatada maior ABChE em indivíduos do sexo masculino e com maior idade. Para DM1 foram 79 pares, sendo 57% mulheres e para DM2, 80 pares, sendo 62,5% mulheres. As médias das idades para os pares DM1 foram de  $24,68 \pm 7,5$  para os diabéticos e  $25,28 \pm 8,3$  para os controles e para os pares DM2,  $50,48 \pm 11,5$  para os diabéticos e  $49,0 \pm 12,5$  para os controles.

Os doadores foram informados sobre sua participação na pesquisa e, concordando, assinaram Termo de Consentimento Livre e Informado (ANEXO 1). O termo segue as normas do Comitê de Ética para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Este projeto foi submetido à avaliação pelo referido Comitê e, após análise, aprovado segundo protocolo Cep-HC n° 327.037/2001-04 (ANEXO 2).

## 4.2. MÉTODOS

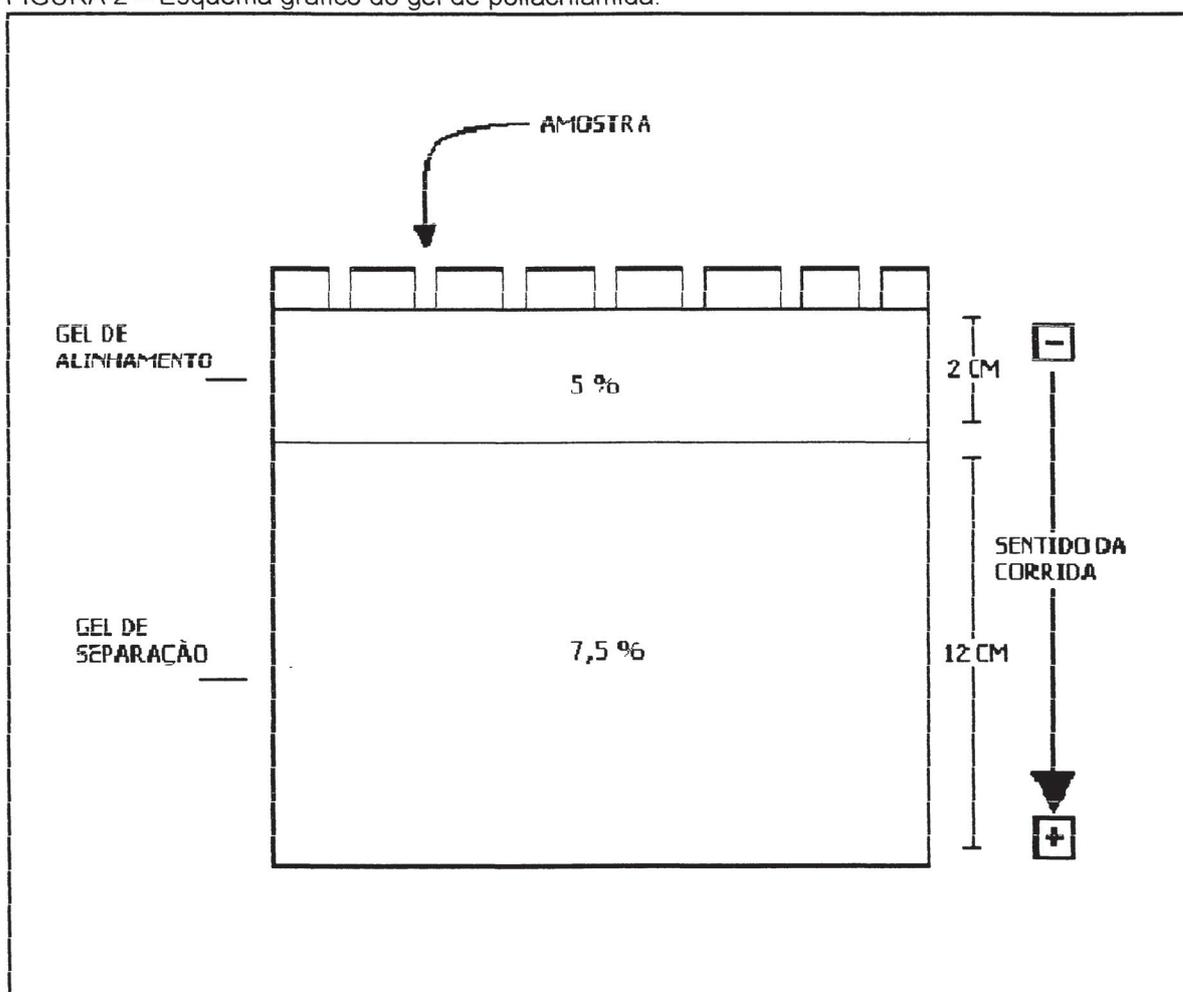
Os fenótipos de CHE2 das amostras utilizadas foram determinados no Laboratório de Pesquisa em Bioquímica Clínica da UFPR pelas alunas de iniciação científica Marciane Welter e Tatiana Alves, por métodos de eletroforese em gel de ágar em pH 6,5.

### 4.2.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida

Procedimento eletroforético em gel de poliacrilamida (SAMBROOK et al., 1989) com concentrações de 5% para o gel de alinhamento e de 7,5% para o gel de separação; faixa de alinhamento com 2 cm de comprimento e de separação com 12 cm (FIGURA 2); tempo de corrida de 10 horas, monitorado de acordo com a distância percorrida pela albumina, estipulada em 9,5 cm, tendo como marcador da albumina, uma mistura 1:1 de azul de bromofenol 2mg% e xilenocianol 2mg%; voltagem de 100V, com amperagem variando de 12,5 a 15,0 mA e temperatura aproximada de 4 °C. As amostras de soro foram diluídas antes de aplicadas ao gel: 2,5 µL de amostra em 7,5 µL de solução de azul de bromofenol e xilenocianol 1:1; aplica-se ao gel 10 µL desta diluição.

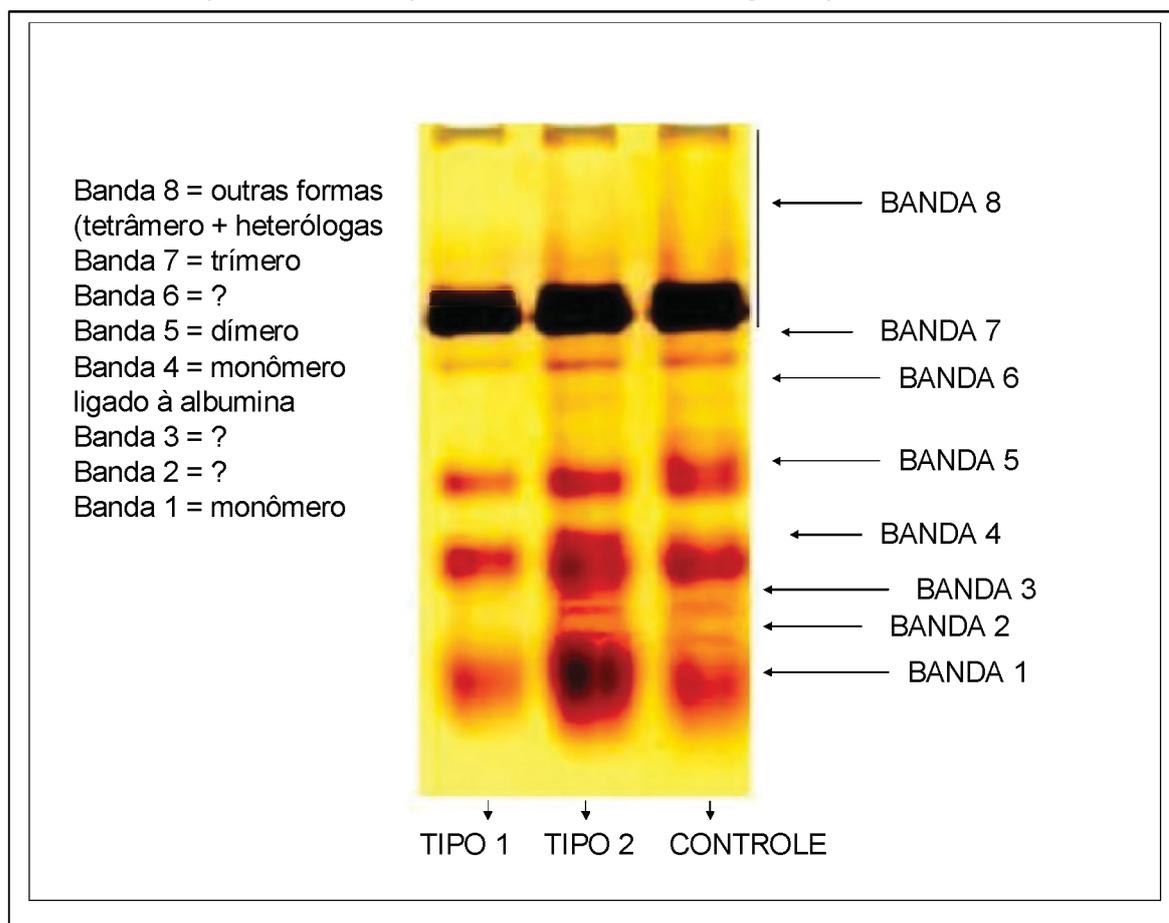
Foram realizadas duas corridas eletroforéticas para cada amostra. Quando necessário, realizou-se uma terceira corrida, objetivando a melhor separação das bandas.

FIGURA 2 – Esquema gráfico do gel de poliacrilamida.



Sob estas condições, as bandas de baixo peso molecular, de corrida rápida, são isoladas satisfatoriamente e as demais bandas, de corrida lenta, migram relativamente juntas, o que permite, além da quantificação, a determinação da proporcionalidade das bandas lentas em relação às mais rápidas. Separam-se as bandas rápidas e as demais permanecem agrupadas (FIGURA 3).

FIGURA 3 – Exemplo de bandas separadas na eletroforese em gel de poliacrilamida



Após a corrida, o gel é retirado do suporte e lavado com água destilada. Aplica-se o cromógeno-substrato, fast-red em tampão fosfato pH 7,1, por imersão do gel na solução e incuba-se a 37 °C por 40 minutos, em estufa.

Depois de corado, o gel é colocado entre folhas de transparência e procede-se leitura das bandas eletroforéticas utilizando-se análise de imagem digitalizada pelo software KODAK 1D, versão 3.5 (1994-2000).

Com esta técnica, foram separadas 8 bandas eletroforéticas (FIGURA 3) que, em ordem decrescente de velocidade de corrida, foram: B1, correspondendo ao monômero; B2 e B3, observadas por LANG (2004) e são bandas ainda não identificadas mas que não aparecem ou são muito fracas em mulheres jovens e são mais fortes em mulheres menopausadas e homens; B4, correspondendo ao monômero ligado à albumina; B5, constituída do dímero; B6, banda também ainda desconhecida e observada por CIPRIANI (2000), em seu trabalho de Iniciação

Científica, com frequência de 60% nas amostras de obesos e 76% nas de não obesos; B7, que corresponde ao trímero e B8, que é o conjunto do tetrâmero com as demais formas moleculares, de maior peso molecular.

B8 foi incluída na análise somente para possibilitar os cálculos das atividades absolutas a partir das atividades relativas obtidas nos experimentos.

Foram realizadas duas corridas eletroforéticas para cada amostra e utilizadas as que apresentaram melhor separação das bandas. Quando necessário, realizou-se uma terceira corrida.

Soluções utilizadas:

A) solução estoque de poliacrilamida 30%: acrilamida (Gibco) 29,0 g; N,N'-Metilenobisacrilamida (Pharmacia Biotech) 1,0 g; água destilada q.s.p. 100,0 mL. Solução armazenada a temperatura entre 2 e 8 °C em frasco escuro, protegido da exposição à luz.

B) solução tampão estoque TBE 89 mM: TRIS-HCl (Sigma) 54,0 g; ácido bórico (Gibco) 27,5 g; solução de EDTA (Merck) 0,5 M (pH 8,0) 20,0 mL; água destilada q.s.p. 1000,0 mL. Solução armazenada a temperatura ambiente.

O tampão de corrida da eletroforese consiste em diluição 1:5 do tampão estoque TBE em água destilada.

C) solução de persulfato de amônia 10%: persulfato de amônia (Merck) 0,5 mg; água destilada q.s.p. 5,0 mL. Solução armazenada a temperatura entre 2 e 8 °C.

D) TEMED (N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine - Gibco). Solução pronta para uso

E) solução estoque de a-naftil acetato 30 mM: a-naftil acetato (Sigma) 112,0 mg; acetona 10,0 mL; água destilada 10,0 mL. Solução armazenada a temperatura entre 2 e 8 °C.

F) tampão fosfato pH 7,1: solução de fosfato dibásico de sódio anidro (Merck) 14,2 g e água destilada q.s.p. 500,0 mL; solução de fosfato diácido de potássio anidro (Merck) 7,9 g e água destilada q.s.p. 250,0 mL. O tampão é obtido adicionando-se a segunda solução à primeira até atingir o pH 7,1. Solução armazenada a temperatura entre 2 e 8°C.

G) solução cromógeno-substrato: fast red TR salt (Acros Organics) 200,0 mg; tampão fosfato (pH 7,1) 80,0 mL; a-naftil acetato (solução estoque) 2,8 mL. Solução preparada no momento do uso.

H) solução de azul de bromofenol: TRIS-HCl pH 7,6 200 mM, 25,0 mL; EDTA 200 mM, 12,5 mL; dodecil sulfato de sódio (SDS) 2%, 5,0 mL; azul de bromofenol 0,4%, 0,1 g; água destilada q.s.p. 100,0 mL. Acrescenta-se a uma parte da solução obtida, três partes de sucrose 50% e armazena-se entre 2 e 8 °C.

I) solução de xilenocianol: TRIS-HCl pH 7,6 200 mM, 25,0 mL; EDTA 200 mM, 12,5 mL; SDS 2%, 5,0 mL; xilenocianol 0,4%, 0,1 g; água destilada q.s.p. 100,0 mL. Acrescenta-se a uma parte da solução obtida, três partes de sucrose 50% e armazena-se entre 2 e 8 °C.

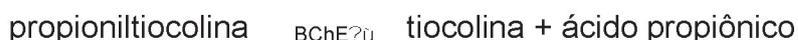
J) gel de poliacrilamida 5,0%: solução estoque de poliacrilamida 30% 2,5 mL; solução tampão estoque de TBE 3,0 mL; água destilada 9,5 mL; solução de persulfato de amônia 10% 125,0 µL; TEMED 15,0 µL

K) gel de poliacrilamida 7,0%: solução estoque de poliacrilamida 30% 7,5 mL; solução tampão estoque de TBE 6,0 mL; água destilada 16,5 mL; solução de persulfato de amônia 10% 250,0 µL; TEMED 30 µL.

#### 4.2.2. Determinação da atividade da butirilcolinesterase

Determinação colorimétrica da atividade total da BChE pelo método da hidrólise da propioniltiocolina/DTNB, segundo DIETZ et al.(1973), modificado por EVANS e WROE (1978). A BChE catalisa a hidrólise da propioniltiocolina, gerando grupos sulfidrílicos livres ao nível da tiocolina, mais ácido propiônico; a tiocolina reage com o ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB), gerando um produto de cor amarela, o ácido 5-tio-2-nitrobenzóico; a taxa de formação deste composto é diretamente proporcional à atividade catalítica da BChE e a cor é medida pelo aumento da absorvância a 405 nm (foi utilizado fotocolorímetro CIEL, modelo Espectromatic 710). A especificidade da enzima pelo substrato elimina a interferência da AChE liberada a partir dos eritrócitos, mesmo quando há hemólise discreta da amostra.

A reação pode ser esquematizada da seguinte forma:



Soluções utilizadas:

A) Solução de propioniltiocolina: 100,0mM: propioniltiocolina (Sigma) 303,0mg; água destilada 10,0 mL. Solução acondicionada em frasco âmbar a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;

B) Solução de DTNB: 0,423 mM em tampão fosfato pH 7,6: DTNB (Acros Organics) 83,5 mg; tampão fosfato pH 7,6 q.s.p. 500,0 mL. Solução estocada em frasco âmbar a temperatura entre 2 e 8  $^{\circ}\text{C}$ ;

C) Tampão fosfato pH 7,6: solução de fosfato dibásico de sódio anidro (Merck) 2,365 g e água destilada q.s.p. 500,0 mL; solução de fosfato diácido de potássio anidro (Merck) 0,68 g e água destilada q.s.p. 50,0 mL. O tampão é obtido adicionando-se a segunda solução à primeira até atingir o pH 7,6. Solução armazenada a temperatura entre 2 e 8  $^{\circ}\text{C}$ .

Para as leituras das absorvâncias utiliza-se espectrofotômetro (Siel Espectromatic 710) de acordo com o seguinte procedimento: termostatar o equipamento a 25  $^{\circ}\text{C}$ ; selecionar prisma em posição para 405 nm; em tubo de ensaio acrescentar 1,1 mL de DTNB tamponado, 25  $\mu\text{L}$  de substrato propioniltiocolina e 125  $\mu\text{L}$  da amostra diluída 1:100 em água destilada; realizar o teste em duplicata permitindo diferença máxima de 5% entre os resultados. O equipamento é programado para efetuar leituras das absorvâncias aos 0, 1, 2 e 3 minutos a partir do início da reação, calcular as diferenças entre as leituras de absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ) e determinar o resultado, dado em kU/L, multiplicando-se a média dos valores de  $\Delta A/\text{min}$  por fator de calibração pré determinado, cujo valor é de 73,5. Este fator é obtido a partir da seguinte equação:

$$\frac{1}{\epsilon_{405\text{ nm}} \times d} \times \frac{VT}{VA}$$

onde:

“ $\epsilon_{405 \text{ nm}}$ ” corresponde ao coeficiente de extinção molar do DTNB de 1 cm a 405 nm (13,6); “d” corresponde ao diâmetro da cubeta (1 cm); “VT” é o volume total da reação (1250  $\mu\text{R}$ ) e “VA” é o volume de amostra (1,25  $\mu\text{R}$ ).

O resultado obtido da atividade da enzima representa a degradação de 1  $\mu\text{Mol}$  de substrato, por minuto, por mL.

A hidrólise espontânea do substrato é desprezível ( $\Delta A/\text{min} = 0,001$ ) e não influencia o resultado.

#### 4.2.3. Parâmetros bioquímicos analisados

Os parâmetros analisados pelo Hospital de Clínicas e suas respectivas metodologias, são os seguintes: glicose (GLC), pelo método da glicose hexoquinase (Merck Mega); colesterol total (CT) e triglicérides (TG), por métodos enzimáticos colorimétricos – (Merck SMT) e HDL-C, pelo método direto (Roche).

Os parâmetros analisados pelo Laboratório Frischmann Aisengart foram: hemoglobina glicada ( $\text{HbA}_{1c}$ ) e apolipoproteína B (Apo B), por cromatografia líquida de alta precisão (BioRad) e turbidimetria (Roche), respectivamente.

Dos controles obtivemos apenas os dados de sexo, idade, glicose, CT, TG e HDL-C.

#### 4.2.4. Análises estatísticas

Para as análises estatísticas utiliza-se o programa Statistica for Windows (STATSOFT, 1986).

São procedidas análises descritivas, de correlações simples e de regressões múltiplas escalonadas. Utilizam-se, também, testes t de Student para amostras dependentes e independentes, além do teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

Para as análises de correlação e regressão, algumas variáveis foram codificadas: raça (euro-brasileiros = 1 e afro-brasileiros = 2), sexo (homens = 1 e

mulheres = 2), fenótipo de *CHE2* (*CHE2* C5<sup>-</sup> = 1 e *CHE2* C5<sup>+</sup> = 2) e tipo de diabetes (DM1 = 1 e DM2 = 2).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. AMOSTRA TOTAL

No grupo dos diabéticos foram encontradas, para o fenótipo CHE2 C5+, as freqüências de 13,46%  $\pm$  3,35%, para DM1 e 14,29%  $\pm$  2,89%, para DM2. Como o comportamento do fenótipo CHE2 C5+ tem se mostrado diferente do CHE2 C5– (HARRIS et al., 1963; SCOTT e POWERS, 1972; CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1991; ALCÂNTARA et al., 2002; ALCÂNTARA et al., 2003). Foram analisados somente os resultados de CHE2 C5–.

### 5.2. DIABÉTICOS DE TIPO 1 E 2, DE FENÓTIPO CHE2 C5–

Com relação às bandas da BChE, nas amostras de DM1 (N = 90) e DM2 (N=126), as freqüências de B6 foram 58% e 68% respectivamente. Para os controles, a freqüência foi de 89%.

B2 em DM1, DM2 e nos controles apresentou freqüências de 95,5%, 88,9% e 95,6%, respectivamente

B3 mostrou freqüências de 95,5% para DM1 e DM2 e 96,86% para os controles.

As demais bandas apareceram em todas as amostras.

#### 5.2.1 Comparação entre as médias das diferentes variáveis

Os indivíduos de fenótipo CHE2 C5– formaram um grupo com 90 amostras de DM1, sendo 62,2% mulheres e 75,6% euro-brasileiros e 126 amostras de DM2, sendo 65,1% mulheres e 61,1% euro-brasileiros.

Na TABELA 3 encontram-se as comparações entre as médias encontradas para variáveis analisadas (idade, PS, PD, IMC, RCQ, CALT, HbA<sub>1c</sub>, glicose, Apo B,

CT, TG, logTG, HDL-C, CTHDL; TGHDL e ABChE) dos DM1, DM2 e destes com seus controles.

Os controles foram pareados por sexo e idade, uma vez que tem sido relatada maior ABChE em indivíduos do sexo masculino e com maior idade. Para DM1 foram 79 pares, sendo 57% mulheres e para DM2, 80 pares, sendo 62,5% mulheres.

Na TABELA 4 são apresentadas as comparações entre as médias das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) das bandas da BChE entre DM1 e DM2, na TABELA 5, as comparações do mesmo grupo de variáveis entre DM1 e seus controles e na TABELA 6, entre DM2 e seus controles.

TABELA 3. Médias (M) ± desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras de DM1 e DM2, de fenótipo CHE2 C5- e comparação com seus respectivos controles (C)

Variável	N	DM1	N	DM2	t (p)
Idade (anos)	90	24,63 ± 7,35 ( 12,0 – 44,0)	126	54,66 ± 11,73 ( 19,0 – 77,0)	21,5 (<0,00001)
PS (mmHg)	88	117,20 ± 13,67 ( 90,0 – 170,0)	123	140,45 ± 17,11 (100,0 – 200,0)	10,6 (<0,00001)
PD (mmHg)	88	72,90 ± 9,25 ( 60,0 – 110,0)	123	87,10 ± 10,70 ( 60,0 – 120,0)	10,1 (<0,00001)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	87	23,16 ± 3,23 ( 15,9 – 33,7)	122	30,19 ± 5,34 ( 19,5 – 44,9)	10,9 (<0,00001)
RCQ (cm/cm)	87	0,82 ± 0,07 ( 0,7 – 1,0)	120	0,94 ± 0,09 ( 0,5 – 1,2)	10,9 (<0,00001)
CALT(m/m)	86	48,15 ± 5,40 ( 37,7 – 66,3)	120	62,44 ± 8,07 ( 42,0 – 87,0)	14,3 (<0,00001)
HbA <sub>1c</sub> (%)	90	10,04 ± 2,35 ( 5,1 – 17,9)	125	8,55 ± 2,07 ( 5,4 – 15,6)	4,9 (<0,00001)
GLC. (mg/dL)	87	222,07 ± 116,56 ( 43,0 – 496,0)	126	181,44 ± 72,80 ( 57,0 – 442,0)	3,1 (<0,01)
Apo B (mg/dL)	90	91,30 ± 27,20 ( 43,0 – 171,0)	126	115,67 ± 30,49 ( 61,0 – 212,0)	6,1 (<0,00001)
CT (mg/dL)	90	188,79 ± 46,23 (115,0 – 340,0)	126	220,68 ± 45,37 (121,0 – 355,0)	5,1 (<0,00001)
TG (mg/dL)	90	98,26 ± 53,18 ( 38,0 – 290,0)	126	179,52 ± 135,39 ( 41,0 – 957,0)	5,4 (<0,0001)
logTG	90	4,47 ± 0,47 ( 3,6 – 5,7)	126	5,00 ± 0,60 ( 3,7 – 6,9)	6,9 (<0,00001)
HDL-C (mg/dL)	90	50,27 ± 9,44 ( 34,0 – 77,0)	125	44,17 ± 11,90 ( 24,0 – 96,0)	4,0 (<0,0001)
CTHDL	90	3,87 ± 1,18 ( 2,4 – 8,3)	125	5,26 ± 1,53 ( 2,2 – 12,0)	7,2 (<0,00001)
TGHDL	90	2,04 ± 1,21 ( 0,7 – 5,5)	125	4,40 ± 3,49 ( 0,5 – 25,2)	6,1 (<0,00001)
ABChE (kU/L)	90	5,01 ± 0,60 ( 2,5 – 7,8)	126	6,00 ± 1,43 ( 1,1 – 10,1)	5,7 (<0,00001)

Variável	N	DM1	N	C	t (p)
Idade (anos)	79	24,68 ± 7,5 ( 12,0 – 44,0)	79	25,28 ± 8,3 ( 1,0 – 47,0)	0,5 (>0,60)
GLC (mg/dL)	77	224,21 ± 121,0 ( 43,0 – 496,0)	79	85,84 ± 7,5 ( 60,0 – 101,0)	10,1 (<0,00001)
CT (mg/dL)	79	187,98 ± 46,5 (115,0 – 340,0)	79	162,54 ± 19,5 ( 99,0 – 200,0)	4,5 (<0,00001)
TG (mg/dL)	79	94,08 ± 74,8 ( 38,0 – 258,0)	79	82,88 ± 16,7 ( 42,0 – 136,0)	1,92 (<0,05)
logTG	79	4,43 ± 0,5 ( 3,6 – 5,6)	79	4,39 ± 0,2 ( 3,7 – 4,9)	0,7 (>0,50)
HDL-C (mg/dL)	79	49,73 ± 9,2 ( 34,0 – 72,0)	71	51,85 ± 13,0 ( 30,0 – 104,0)	1,2 (>0,20)
CTHDL	79	3,88 ± 1,2 ( 2,4 – 8,3)	71	3,29 ± 0,8 ( 1,5 – 5,3)	3,8 (<0,001)
TGHDL	79	1,98 ± 1,1 ( 0,7 – 5,4)	79	1,68 ± 0,5 ( 0,7 – 3,4)	2,1 (<0,05)
ABChE (kU/L)	79	4,98 ± 0,9 ( 2,5 – 7,8)	79	3,74 ± 0,7 ( 1,9 – 5,6)	9,4 (<0,00001)

Variável	N	DM2	N	C	t (p)
Idade (anos)	80	50,48 ± 11,5 ( 19,0 – 77,0)	80	49,00 ± 12,5 ( 19,0 – 79,0)	0,8 (>0,40)
GLC (mg/dL)	80	181,03 ± 74,7 ( 84,0 – 442,0)	80	86,44 ± 5,2 ( 75,0 – 109,0)	11,3 (<0,00001)
CT (mg/dL)	80	224,99 ± 43,8 (121,0 – 355,0)	80	185,01 ± 26,5 (115,0 – 248,0)	7,0 (<0,00001)
TG (mg/dL)	80	199,11 ± 155,7 ( 53,0 – 957,0)	80	110,44 ± 39,6 ( 42,0 – 200,0)	4,9 (<0,00001)
logTG	80	5,08 ± 0,6 ( 4,0 – 6,9)	80	4,64 ± 0,4 ( 3,7 – 5,3)	5,5 (<0,00001)
HDL-C (mg/dL)	79	43,27 ± 10,4 ( 26,0 – 72,0)	78	48,16 ± 12,2 ( 22,0 – 82,0)	2,7 (<0,01)
CTHDL	79	5,39 ± 1,3 ( 2,9 – 8,9)	78	4,07 ± 1,2 ( 2,2 – 7,8)	6,7 (<0,00001)
TGHDL	79	4,83 ± 3,9 ( 0,7 – 25,2)	78	2,58 ± 1,4 ( 0,8 – 6,6)	4,9 (<0,00001)
ABChE (kU/L)	80	5,97 ± 1,4 ( 1,1 – 9,7)	80	5,40 ± 0,9 ( 3,0 – 6,9)	3,0 (<0,01)

PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; CALT= razão cintura/altura; GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; logTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C; ABChE = atividade total da BChE. Os controles foram pareados por idade e sexo.

TABELA 4. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) das diferentes formas moleculares da BChE em amostras de DM1 e DM2, de fenótipo CHE2 C5-

Variáveis	DM1		DM2		t (p)
	N	M ± DP (AV)	N	M ± DP (AV)	
<b>Relativas</b>					
ARB1 (%)	90	16,77 ± 5,26 ( 3,7 – 34,2)	126	17,14 ± 6,68 ( 2,4 – 32,1)	0,4 (>0,60)
ARB2 (%)	90	0,63 ± 0,38 ( 0,0 – 2,0)	126	0,69 ± 0,56 ( 0,0 – 4,2)	0,9 (>0,30)
ARB3 (%)	90	0,70 ± 0,37 ( 0,0 – 1,8)	126	0,75 ± 0,56 ( 0,0 – 3,3)	0,7 (>0,40)
ARB4 (%)	90	13,57 ± 3,66 ( 2,0 – 21,6)	126	13,81 ± 3,87 ( 2,3 – 23,7)	0,5 (>0,60)
ARB5 (%)	90	9,19 ± 3,56 ( 2,6 – 18,3)	126	8,96 ± 3,57 ( 2,6 – 20,4)	0,5 (>0,60)
ARB6 (%)	90	0,94 ± 1,15 ( 0,0 – 3,8)	126	1,15 ± 1,29 ( 0,0 – 5,5)	1,2 (>0,20)
ARB7 (%)	90	3,17 ± 1,19 ( 1,2 – 6,4)	126	3,55 ± 1,32 ( 1,1 – 7,2)	2,2 (<0,05)
<b>Absolutas</b>					
AAB1 (kU/L)	90	0,85 ± 0,33 ( 0,2 – 1,8)	126	1,06 ± 0,55 ( 0,1 – 2,8)	3,3 (<0,001)
AAB2 (kU/L)	90	0,03 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	126	0,04 ± 0,04 ( 0,1 – 0,3)	2,4 (<0,05)
AAB3 (kU/L)	90	0,04 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	126	0,05 ± 0,04 ( 0,0 – 0,2)	2,5 (<0,05)
AAB4 (kU/L)	90	0,68 ± 0,22 ( 0,1 – 1,2)	126	0,84 ± 0,34 ( 0,1 – 1,6)	3,9 (<0,001)
AAB5 (kU/L)	90	0,47 ± 0,24 ( 0,1 – 1,4)	126	0,55 ± 0,27 ( 0,1 – 1,6)	2,1 (<0,05)
AAB6 (kU/L)	90	0,05 ± 0,07 ( 0,0 – 0,3)	126	0,07 ± 0,08 ( 0,0 – 0,3)	2,0 (<0,05)
AAB7 (kU/L)	90	0,16 ± 0,08 ( 0,1 – 0,4)	126	0,22 ± 0,10 ( 0,0 – 0,5)	4,3 (<0,0001)

TABELA 5. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) diferentes formas moleculares da BChE em amostras DM1 e seus controles (C), de fenótipo CHE2 C5-

Variáveis	DM1	C	t (p)
	M ± DP (AV)	M ± DP (AV)	
<b>Relativas</b>			
ARB1 (%)	16,84 ± 5,28 ( 3,7 – 34,2)	13,35 ± 5,15 ( 3,3 – 24,8)	4,2 (<0,0001)
ARB2 (%)	0,64 ± 0,39 ( 0,0 – 2,0)	0,81 ± 0,40 ( 0,0 – 2,0)	2,7 (<0,01)
ARB3 (%)	0,71 ± 0,37 ( 0,0 – 1,8)	0,72 ± 0,39 ( 0,0 – 2,1)	0,2 (>0,80)
ARB4 (%)	13,68 ± 3,70 ( 2,0 – 21,6)	11,77 ± 3,66 ( 2,6 – 18,2)	3,3 (<0,01)
ARB5 (%)	9,28 ± 3,47 ( 2,6 – 17,4)	12,65 ± 4,14 ( 2,5 – 22,1)	5,5 (<0,0001)
ARB6 (%)	0,96 ± 1,15 ( 0,0 – 3,8)	0,69 ± 0,46 ( 0,0 – 1,5)	1,9 (>0,05) *
ARB7 (%)	3,16 ± 1,22 ( 1,2 – 6,4)	2,75 ± 0,73 ( 1,3 – 4,9)	2,6 (<0,05)
<b>Absolutas</b>			
AAB1 (kU/L)	0,84 ± 0,32 ( 0,2 – 1,8)	0,50 ± 0,23 ( 0,1 – 1,2)	7,6 (<0,00001)
AAB2 (kU/L)	0,03 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	0,03 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	0,1 (>0,90)
AAB3 (kU/L)	0,04 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	0,03 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	2,3 (<0,05)
AAB4 (kU/L)	0,68 ± 0,22 ( 0,1 – 1,2)	0,45 ± 0,19 ( 0,1 – 0,9)	7,1 (<0,00001)
AAB5 (kU/L)	0,47 ± 0,23 ( 0,1 – 1,4)	0,48 ± 0,21 ( 0,1 – 1,2)	0,3 (>0,70)
AAB6 (kU/L)	0,05 ± 0,07 ( 0,0 – 0,3)	0,03 ± 0,02 ( 0,0 – 0,1)	3,1 (<0,01)
AAB7 (kU/L)	0,16 ± 0,07 ( 0,1 – 0,4)	0,10 ± 0,04 ( 0,1 – 0,3)	5,8 (<0,00001)

N = 79. Pareamento por idade e sexo. \* = valor próximo à significância.

TABELA 6. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) das atividades relativas (AR) e absolutas (AA) diferentes formas moleculares da BChE em amostras DM2 e seus controles (C), de fenótipo CHE2 C5-

Variáveis	DM2		C		t (p)
	M ± DP (AV)		M ± DP (AV)		
<b>Relativas</b>					
ARB1 (%)	17,90 ± 6,39	( 3,9 – 29,8)	14,26 ± 6,53	( 2,3 – 27,6)	3,6 (<0,001)
ARB2 (%)	0,68 ± 0,57	( 0,0 – 4,2)	0,88 ± 0,52	( 0,0 – 2,9)	2,3 (<0,05)
ARB3 (%)	0,73 ± 0,50	( 0,0 – 2,4)	0,72 ± 0,33	( 0,0 – 1,7)	0,2 (>0,80)
ARB4 (%)	14,03 ± 4,19	( 2,3 – 23,7)	12,11 ± 4,41	( 1,2 – 19,9)	2,8 (<0,01)
ARB5 (%)	9,12 ± 3,63	( 2,6 – 20,4)	13,17 ± 3,32	( 3,1 – 21,6)	7,4
(<0,00001)					
ARB6 (%)	1,15 ± 1,29	( 0,0 – 4,9)	2,00 ± 1,08	( 0,0 – 4,2)	4,5 (<0,0001)
ARB7 (%)	3,36 ± 1,28	( 1,1 – 6,0)	3,07 ± 0,76	( 1,6 – 4,8)	1,7 (>0,05) <sup>§</sup>
<b>Absolutas</b>					
AAB1 (kU/L)	1,10 ± 0,55	( 0,2 – 2,5)	0,78 ± 0,42	( 0,1 – 1,7)	4,0 (<0,0001)
AAB2 (kU/L)	0,04 ± 0,05	( 0,0 – 0,3)	0,05 ± 0,03	( 0,0 – 0,2)	1,0 (>0,30)
AAB3 (kU/L)	0,05 ± 0,04	( 0,0 – 0,2)	0,04 ± 0,02	( 0,0 – 0,1)	1,2 (>0,20)
AAB4 (kU/L)	0,85 ± 0,36	( 0,1 – 1,6)	0,68 ± 0,30	( 0,1 – 1,2)	3,5 (<0,001)
AAB5 (kU/L)	0,55 ± 0,27	( 0,1 – 1,6)	0,71 ± 0,21	( 0,1 – 1,2)	4,2 (<0,0001)
AAB6 (kU/L)	0,07 ± 0,08	( 0,0 – 0,3)	0,11 ± 0,06	( 0,0 – 0,2)	3,3 (<0,01)
AAB7 (kU/L)	0,20 ± 0,10	( 0,1 – 0,5)	0,18 ± 0,06	( 0,1 – 0,4)	3,0 (<0,01)

N = 80. Pareamento por idade e sexo. <sup>§</sup> = valor próximo à significância.

## 5.2.2 Correlações entre as variáveis

Foram realizadas análises de correlação simples das AAs das bandas dos DM1 (TABELA 7), dos DM2 (TABELA 8) e dos controles (TABELA 9), com as demais variáveis analisadas e também destas variáveis entre si nas amostras DM1 (TABELA 10), DM2 (TABELA 11), a fim de fornecer dados de apoio, para que se possa ter melhor compreensão das análises de regressão múltipla escalonada.

TABELA 7. Resultados das análises de correlação simples em amostra de pacientes diabéticos DM1 de fenótipo CHE2 C5-

Variáveis	N	AAB1 (p)	AAB2 (p)	AAB3 (p)	AAB4 (p)	AAB5 (p)	AAB6 (p)	AAB7 (p)
Sexo	90	-0,01 (>0,90)	-0,04 (>0,70)	-0,22 (<0,20)	-0,12 (>0,20)	-0,05 (>0,60)	-0,09 (>0,30)	-0,01 (>0,90)
Idade	90	-0,01 (>0,90)	-0,14 (>0,30)	-0,10 (<0,05)	-0,22 (<0,05)	-0,03 (>0,70)	0,12 (>0,20)	0,13 (>0,20)
Raça	90	0,08 (>0,40)	0,21 (<0,05)	0,12 (>0,20)	0,06 (>0,50)	0,02 (>0,80)	0,01 (>0,90)	-0,05 (>0,60)
PS	90	-0,25 (<0,05)	0,01 (>0,90)	-0,14 (>0,10)	-0,19 (>0,05) *	0,10 (>0,30)	0,29 (<0,01)	0,27 (=0,01)
PD	88	-0,03 (>0,70)	0,09 (>0,40)	0,02 (>0,80)	0,02 (>0,80)	0,23 (<0,05)	0,35 (<0,001)	0,30 (<0,01)
IMC	87	0,02 (>0,80)	-0,18 (>0,05) *	-0,27 (<0,05)	-0,05 (>0,50)	-0,19 (>0,05) *	-0,12 (>0,20)	-0,22 (<0,05)
RCQ	87	0,14 (>0,20)	0,04 (>0,70)	0,04 (>0,70)	0,10 (>0,30)	0,10 (>0,40)	0,10 (>0,30)	0,03 (>0,70)
RCA	86	0,16 (>0,10)	-0,11 (>0,30)	-0,16 (>0,10)	0,07 (>0,40)	-0,09 (>0,40)	0,01 (>0,90)	-0,08 (>0,40)
HbA <sub>1c</sub>	90	0,12 (>0,20)	0,15 (>0,10)	0,29 (<0,01)	0,14 (>0,70)	0,20 (>0,05) *	0,06 (>0,50)	0,07 (>0,50)
GLC	87	0,17 (>0,10)	0,20 (>0,05) *	0,42 (<0,0001)	0,13 (>0,20)	-0,05 (>0,60)	0,17 (>0,10)	0,04 (>0,70)
ApoB	90	0,37 (<0,0001)	0,23 (<0,05)	0,25 (<0,05)	0,24 (<0,05)	0,44 (<0,0001)	0,41 (<0,0001)	0,42 (<0,0001)
CT	90	0,27 (<0,05)	0,23 (<0,05)	0,24 (<0,05)	0,15 (>0,10)	0,49 (<0,0001)	0,39 (<0,0001)	0,39 (<0,0001)
TG	90	0,42 (<0,0001)	0,35 (=0,001)	0,37 (<0,0001)	0,31 (<0,01)	0,45 (<0,0001)	0,33 (<0,01)	0,36 (<0,0001)
logTG	90	0,34 (=0,0001)	0,33 (=0,001)	0,35 (=0,0001)	0,23 (<0,05)	0,39 (<0,0001)	0,32 (<0,01)	0,33 (=0,001)
HDL-C	90	-0,23 (<0,05)	-0,04 (>0,70)	-0,02 (>0,80)	-0,22 (<0,05)	-0,04 (>0,60)	0,01 (>0,90)	0,06 (>0,50)
CTHDL	90	0,37 (<0,0001)	0,20 (>0,05) *	0,21 (<0,05)	0,28 (<0,01)	0,44 (<0,0001)	0,35 (=0,001)	0,30 (<0,01)
TGHDL	90	0,46 (<0,0001)	0,34 (=0,001)	0,36 (<0,001)	0,37 (<0,0001)	0,44 (<0,0001)	0,37 (<0,001)	0,33 (=0,001)

PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; RCA = razão cintura/altura; CT = colesterol total;

TG = triglicéides; CTHDL = razão CT/HDL

-C, TG/HDL = razão TG/HDL-C. \* = valor próximo à significância.

TABELA 8. Resultados das análises de correlação simples em amostra de pacientes diabéticos DM2 de fenótipo C HEZ C5-

Variável	N	AAB1 (P)	AAB2 (P)	AAB3 (P)	AAB4 (P)	AAB5 (P)	AAB6 (P)	AAB7 (P)
Sexo	126	0,07 (>0,40)	0,08 (>0,30)	0,10 (>0,20)	0,15 (>0,10)	<b>0,23 (&lt;0,01)</b>	0,04 (>0,60)	0,05 (>0,50)
Idade	126	-0,11 (>0,20)	-0,13 (>0,10)	-0,11 (>0,20)	<b>-0,21 (&lt;0,05)</b>	-0,06 (>0,40)	-0,15 (>0,05) <sup>a</sup>	-0,11 (>0,20) <sup>a</sup>
Razão	120	0,04 (>0,60)	0,16 (>0,05) <sup>a</sup>	<b>0,24 (&lt;0,01)</b>	0,06 (>0,30)	0,03 (>0,70)	0,16 (>0,05) <sup>a</sup>	<b>0,22 (&lt;0,05)</b>
PS	123	-0,01 (>0,90)	0,09 (>0,30)	0,06 (>0,30)	-0,01 (>0,80)	-0,02 (>0,80)	-0,06 (>0,30)	-0,08 (>0,30)
PD	123	0,04 (>0,60)	0,10 (>0,20)	0,05 (>0,60)	0,01 (>0,80)	-0,02 (>0,80)	-0,03 (>0,70)	-0,01 (>0,80)
IMC	122	<b>0,33 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,32 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,22 (&lt;0,05)</b>	<b>0,29 (&lt;0,001)</b>	0,16 (>0,05) <sup>a</sup>	0,15 (>0,10)	0,15 (>0,05) <sup>a</sup>
RCQ	120	0,08 (>0,40)	0,18 (<0,05)	0,26 (<0,01)	0,08 (>0,30)	0,07 (>0,40)	0,17 (>0,05) <sup>a</sup>	0,15 (>0,05) <sup>a</sup>
RCA	120	<b>0,34 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,37 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,35 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>	<b>0,21 (&lt;0,05)</b>	0,18 (>0,05) <sup>a</sup>	<b>0,21 (&lt;0,05)</b>
HbA <sub>1c</sub>	125	0,01 (>0,90)	0,13 (>0,10)	0,20 (<0,05)	0,04 (>0,60)	<b>0,18 (&lt;0,05)</b>	0,10 (>0,20)	0,11 (>0,20)
GLC	126	0,01 (>0,90)	0,13 (>0,10)	0,16 (>0,05) <sup>a</sup>	0,04 (>0,60)	0,10 (>0,20)	0,12 (>0,10)	0,12 (>0,10)
ApoE	126	<b>0,43 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,20 (&lt;0,05)</b>	0,18 (<0,05)	<b>0,32 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,24 (&lt;0,01)</b>	0,11 (>0,20)	<b>0,25 (&lt;0,01)</b>
CT	126	<b>0,34 (&lt;0,001)</b>	<b>0,24 (&lt;0,01)</b>	<b>0,29 (&lt;0,001)</b>	<b>0,25 (&lt;0,01)</b>	<b>0,31 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,19 (&lt;0,05)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>
TG	126	<b>0,31 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,28 (&lt;0,001)</b>	0,34 (<0,0001)	<b>0,33 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,21 (&lt;0,05)</b>	<b>0,21 (&lt;0,05)</b>	<b>0,27 (&lt;0,01)</b>
logTG	126	<b>0,34 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,31 (&lt;0,001)</b>	<b>0,34 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,32 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,24 (&lt;0,01)</b>	<b>0,21 (&lt;0,05)</b>	<b>0,29 (&lt;0,0001)</b>
HDL-C	125	<b>-0,31 (&lt;0,0001)</b>	-0,13 (>0,10)	-0,11 (>0,20)	-0,10 (>0,20)	0,02 (>0,80)	-0,17 (>0,05) <sup>a</sup>	-0,16 (>0,05) <sup>a</sup>
CTHDL	125	<b>0,48 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,25 (&lt;0,01)</b>	<b>0,27 (&lt;0,01)</b>	<b>0,26 (&lt;0,01)</b>	<b>0,18 (&lt;0,05)</b>	<b>0,26 (&lt;0,01)</b>	<b>0,36 (&lt;0,0001)</b>
TGHDL	125	<b>0,31 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,18 (&lt;0,05)</b>	0,19 (<0,05)	<b>0,24 (&lt;0,01)</b>	0,14 (>0,10)	0,14 (>0,10)	<b>0,21 (&lt;0,05)</b>

PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; RCA = razão cintura/altura; CT = colesterol total; TG = triglicéides; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C. <sup>a</sup> = valor próximo à significância.

TABELA 9. Resultados das análises de correlação simples em amostra dos controles de fenótipo CHE2 C5-

Variáveis	N	AAB1 (p)	AAB2 (p)	AAB3 (p)	AAB4 (p)	AAB5 (p)	AAB6 (p)	AAB7 (p)
Sexo	159	-0,09 (>0,20)	-0,24 (<0,01)	-0,23 (<0,01)	-0,16 (<0,05)	-0,08 (>0,20)	-0,22 (<0,01)	-0,18 (<0,05)
Idade	159	0,35 (<0,0001)	0,24 (<0,01)	0,23 (<0,01)	0,32 (<0,0001)	0,42 (<0,0001)	0,51 (<0,0001)	0,45 (<0,0001)
GLC	159	0,08 (>0,20)	0,04 (>0,60)	0,07 (>0,40)	0,15 (>0,05) <sup>*</sup>	-0,02 (>0,70)	-0,03 (>0,60)	0,09 (>0,20)
CT	158	0,17 (<0,05)	0,14 (>0,05) <sup>*</sup>	0,09 (>0,20)	0,24 (<0,01)	0,27 (<0,001)	0,37 (<0,0001)	0,32 (<0,0001)
TG	159	0,29 (<0,0001)	0,16 (<0,05)	0,17 (<0,05)	0,23 (<0,01)	0,30 (<0,0001)	0,32 (<0,0001)	0,24 (<0,01)
logTG	159	0,27 (<0,001)	0,13 (>0,10)	0,13 (>0,05) <sup>*</sup>	0,21 (<0,01)	0,27 (<0,001)	0,31 (<0,0001)	0,23 (<0,01)
HDL-C	141	-0,13 (>0,10)	-0,16 (<0,05)	-0,16 (<0,05)	-0,11 (>0,10)	-0,15 (>0,05) <sup>*</sup>	-0,20 (<0,05)	-0,17 (<0,05)
CTHDL	140	0,22 (<0,01)	0,29 (<0,0001)	0,22 (<0,01)	0,21 (<0,01)	0,32 (<0,0001)	0,40 (<0,0001)	0,31 (<0,0001)
TGHDL	125	0,26 (<0,001)	0,24 (<0,01)	0,21 (<0,01)	0,19 (<0,05)	0,30 (<0,0001)	0,33 (<0,0001)	0,24 (<0,01)

GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C. <sup>\*</sup> = valor próximo à significância.

TABELA 10. Coeficientes de correlação simples entre as variáveis de bioquímicas e antropométricas, em 90 pacientes DM1, fênótipo CHE2 C5-

Variáveis	Sexo	HbA <sub>1c</sub>	Idade	Raça	PS	PD	IMC	RCC
RCA								
Idade	0,03 (>0,70)							
Raça	0,01 (>0,90)	-0,05 (>0,60)						
PS	-0,06 (>0,50)	<b>0,43 (&lt;0,0001)</b>	-0,07 (>0,50)	<b>0,75 (&lt;0,0001)</b>				
PD	-0,05 (>0,60)	<b>0,34 (=0,001)</b>	-0,01 (>0,90)	<b>0,23 (&lt;0,05)</b>	<b>0,33 (&lt;0,01)</b>			
IMC	0,16 (>0,10)	<b>0,23 (&lt;0,05)</b>	-0,01 (>0,90)	<b>0,23 (&lt;0,05)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>			
RCC	<b>-0,33 (&lt;0,01)</b>	<b>0,06 (&gt;0,50)</b>	-0,02 (>0,80)	<b>0,31 (&lt;0,01)</b>	<b>0,83 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,27 (&lt;0,05)</b>		
RCA	0,16 (>0,10)	<b>0,22 (&lt;0,05)</b>	<b>0,22 (&lt;0,05)</b>	-0,16 (>0,10)	<b>0,16 (&gt;0,10)</b>	<b>0,57 (&lt;0,0001)</b>	<b>-0,24 (&lt;0,05)</b>	
HbA <sub>1c</sub>	-0,11 (>0,30)	<b>-0,29 (&lt;0,01)</b>	<b>0,08 (&gt;0,40)</b>	-0,12 (>0,20)	-0,01 (>0,90)	-0,03 (>0,70)	<b>-0,08 (&gt;0,40)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>
Glicose	-0,12 (>0,20)	<b>-0,20 (&gt;0,05)</b>	-0,02 (>0,80)	<b>0,19 (&gt;0,05)</b>	<b>0,21 (&gt;0,05)</b>	<b>0,22 (&lt;0,05)</b>	<b>0,20 (&gt;0,05)</b>	<b>0,41 (&lt;0,0001)</b>
Apo B	-0,01 (>0,90)	<b>0,03 (&gt;0,70)</b>	-0,02 (>0,80)	<b>0,19 (&gt;0,05)</b>	<b>0,11 (&gt;0,20)</b>	<b>0,15 (&gt;0,10)</b>	<b>0,11 (&gt;0,30)</b>	<b>0,31 (&lt;0,01)</b>
CT	<b>0,08 (&gt;0,40)</b>	<b>0,12 (&gt;0,20)</b>	-0,03 (>0,70)	<b>0,33 (&lt;0,01)</b>	<b>0,01 (&gt;0,90)</b>	<b>0,14 (&gt;0,10)</b>	<b>0,16 (&gt;0,10)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>
TG	<b>0,06 (&gt;0,50)</b>	-0,05 (>0,60)	<b>0,01 (&gt;0,90)</b>	<b>0,12 (&gt;0,20)</b>	-0,01 (>0,90)	<b>0,14 (&gt;0,10)</b>	<b>0,16 (&gt;0,10)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>
logTG	<b>0,09 (&gt;0,40)</b>	-0,05 (>0,60)	-0,02 (>0,80)	<b>0,14 (&gt;0,10)</b>	<b>0,05 (&gt;0,60)</b>	<b>0,15 (&gt;0,10)</b>	<b>0,19 (&gt;0,05)</b>	<b>0,29 (&lt;0,01)</b>
HDL-C	<b>0,15 (&gt;0,10)</b>	<b>0,06 (&gt;0,50)</b>	<b>0,06 (&gt;0,50)</b>	-0,01 (>0,90)	-0,10 (>0,30)	-0,18 (>0,05)	<b>-0,22 (&lt;0,05)</b>	<b>-0,02 (&gt;0,80)</b>
CTHDL	-0,05 (>0,60)	<b>0,01 (&gt;0,90)</b>	-0,08 (>0,40)	<b>0,30 (&lt;0,01)</b>	<b>0,35 (=0,01)</b>	<b>0,25 (&lt;0,05)</b>	<b>0,24 (&lt;0,05)</b>	<b>0,26 (&lt;0,05)</b>
TGHDL	-0,01 (>0,90)	-0,09 (>0,40)	-0,01 (>0,90)	<b>0,15 (&gt;0,10)</b>	<b>0,20 (&gt;0,05)</b>	<b>0,20 (&gt;0,05)</b>	<b>0,22 (&lt;0,05)</b>	<b>0,26 (&lt;0,05)</b>
Variáveis	Glicose	Apo B	CT	TG	logTG	HDL-C	CTHDL	
Apo B	0,06 (>0,50)							
CT	0,05 (>0,60)							
TG	<b>0,26 (&lt;0,05)</b>	<b>0,72 (&lt;0,0001)</b>						
logTG	<b>0,25 (&lt;0,05)</b>	<b>0,69 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,96 (&lt;0,0001)</b>					
HDL-C	0,02 (>0,80)	-0,18 (<0,05)	-0,11 (>0,20)	-0,12 (>0,20)				
CTHDL	0,03 (>0,80)	<b>0,82 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,66 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,64 (&lt;0,0001)</b>	<b>-0,53 (&lt;0,0001)</b>			
TGHDL	<b>0,23 (&lt;0,05)</b>	<b>0,70 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,94 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,92 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,40 (&lt;0,0001)</b>	<b>0,78 (&lt;0,0001)</b>		

PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; IMC = índice de massa corporal; RCC = razão cintura/altura; CT = colesterol total; TG = triglicérides; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL-C = valor próximo à significância.



### 5.2.3 Análises de regressão múltipla escalonada

A análise de regressão múltipla escalonada é um modelo que permite a disposição das variáveis independentes por ordem decrescente de intensidade de correlação com a variável dependente. Desta forma, se as variáveis analisadas apresentarem forte correlação entre si, somente entrará no modelo aquela que mostrar maior correlação com a variável dependente. Além disso, através do coeficiente de determinação ( $r^2$ ), pode-se aferir o quanto as variáveis independentes apresentadas no modelo explicam da diferença dos valores da variável dependente.

Na TABELA 12 encontram-se os resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo como dependentes as AAs das sete bandas analisadas da BChE em DM1 e, como independentes, as demais variáveis.

Pode-se observar que as AAs se correlacionaram significativamente com as seguintes variáveis independentes:

AAB1 correlacionou-se positivamente com idade e razão TG/HDL-C e negativamente com PS. Estas variáveis responderam por 35% da variação da AAB1, sendo a banda que obteve maior valor de  $r^2$ , neste modelo. AAB2 mostrou-se correlacionada positivamente com a razão TG/HDL-C e negativamente com IMC, que responderam por 16% da variação de AAB2. AAB3 mostrou correlação positiva com glicose e negativa com sexo e IMC, que explicaram 34% da variabilidade de AAB3. AAB4 correlacionou-se positivamente com a razão TG/HDL-C e negativamente com a PS, explicando 21% de sua variação. AAB5 apresentou correlação positiva com PD e TG e negativa com IMC; AAB6 e AAB7 apresentaram correlações positivas com PD e CT e negativas com IMC. Estas variáveis independentes explicaram 29%, 28% e 30% das variações desta três AAs, respectivamente.

Os dados das análises de regressão múltipla escalonada dos resultados de DM2 e controles, são apresentados na TABELA 13 e na TABELA 14, respectivamente, e devem ser analisados de maneira semelhante aos da TABELA 12.

TABELA 12. Resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo as atividades absolutas (AA) das diferentes formas moleculares da BChE como dependentes nos DM1 de fenótipo CHE2 C5-

V.D (N)	Variáveis Independentes									r <sup>2</sup>
	Idade	Sexo	IMC	PS	PD	GLC	CT	TG	TGHDL	
AAB1 (84)	+ *	0	0	-á ****	0	0	0	0	+ ****	0,35
AAB2 (87)	0	0	-á *	0	0	0	0	0	+ **	0,16
AAB3 (84)	0	-á *	-á *	0	0	+ **	0	0	+ **	0,34
AAB4 (90)	0	0	0	-á *	0	0	0	0	+ ****	0,21
AAB5 (85)	0	0	-á **	0	+ **	0	0	+ ***	0	0,29
AAB6 (85)	0	0	-á *	0	+ **	0	+ **	0	0	0,28
AAB7 (85)	0	0	-á ***	0	+ **	0	+ **	0	0	0,30

V.D. = Variável dependente; IMC = índice de massa corporal; PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; TGHDL-C = razão TG/HDL-C; + = correlação positiva; - = correlação negativa; 0 = variável com resultado não significativo.

\* = p<0,05; \*\* = p<0,01; \*\*\* = p<0,001; \*\*\*\* = p<0,0001.

TABELA 13. Resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo as atividades absolutas (AA) das diferentes formas moleculares da BChE como dependentes nos DM2 de fenótipo CHE2 C5-

V.D. (N)	Variáveis Independentes								r <sup>2</sup>
	Idade	Raça	CALT	Apo B	CT	TG	LTG	CTHDL	
AAB1 (119)	0	0	+ **	0	0	0	0	+ ****	0,30
AAB2 (120)	0	0	+ ****	0	+ *	0	0	0	0,18
AAB3 (119)	0	+ **	+ **	0	0	0	+ **	0	0,26
AAB4 (120)	-á **	0	+ *	+ *	0	+ *	0	0	0,25
AAB5 (120)	0	0	+ *	0	+ **	0	0	0	0,12
AAB6 (117)	-á *	0	0	0	0	0	0	+ *	0,12
AAB7 (125)	0	0	0	0	0	0	0	+ ***	0,13

V.D. = Variável dependente; CALT= razão cintura/altura; CT=colesterol total; TG triglicérides; LTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; + = correlação positiva; - = correlação negativa; 0 = variável com resultado não significativo. \* = p<0,05; \*\* = p<0,01; \*\*\* = p<0,001; \*\*\*\* = p<0,0001.

TABELA 14. Resultados das análises de regressão múltipla escalonada, tendo as atividades das diferentes formas moleculares da BChE como dependentes nos 159 controles de fenótipo CHE2 C5-

V.D.	Variáveis Independentes						r <sup>2</sup>
	ID	SE	GLC	CT	TG	CTHDL	
AAB1	+ ***	0	0	0	+ *	0	0,15
AAB2	+ **	-a**	0	0	0	0	0,12
AAB3	+ **	-a**	0	0	0	0	0,11
AAB4	+ ****	-a*	0	0	0	0	0,13
AAB5	+ ****	0	-a*	0	0	+ **	0,24
AAB6	+ ****	-a**	-a***	0	0	+ **	0,39
AAB7	+ ****	-a**	0	+ *	0	0	0,27

V.D. = Variável dependente; ID = idade; SE = sexo; GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; CTHDL = razão CT/HDL-C; + = correlação positiva; - = correlação negativa; 0 = variável com resultado não significativo; \* = p<0,05; \*\* = p<0,01; \*\*\* = p<0,001; \*\*\*\* = p<0,0001.

#### 5.2.4 Comparação das médias das variáveis de fenótipo CHE2 C5-, antes e após tratamento.

Para avaliar o efeito do tratamento nos pacientes diabéticos, foi considerada a alteração dos valores de HbA<sub>1c</sub> entre a primeira coleta e uma segunda coleta. Dos 90 DM1 iniciais, apenas 48 voltaram para a coleta da segunda amostra após um tempo médio de 6 ± 2 meses e, destes, somente 32 (66,67%) mostraram diminuição dos valores médios de HbA<sub>1c</sub> após este período. Dos 126 DM2, 73 voltaram para a segunda coleta após um tempo médio de 8 ± 3 meses e apenas 38 deles (52,1%) tiveram suas porcentagens de HbA<sub>1c</sub> diminuídas.

Nas TABELAS 15 e 16 encontram-se, as comparações das médias das variáveis analisadas nos DM1 e nos DM2, respectivamente, para a primeira e a segunda coleta.

TABELA 15. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) de algumas variáveis que apresentaram modificação após a diminuição nos valores da HbA1c, em DM1 de fenótipo CHE2 C5–

Variáveis	N	Maior HbA1c		Menor HbA1c		t (p)
		M ± DP	(AV)	M ± DP	(AV)	
HbA <sub>1c</sub> (%)	32	9,95 ±	2,01	8,57 ±	1,97	7,4 (<0,0001)
PS (mmHg)	31	112,58 ±	9,99	106,93 ±	7,82	2,7 (<0,05)
PD (mmHg)	31	70,32 ±	6,57	68,87 ±	7,79	1,2 (>0,20)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30	21,70 ±	2,91	20,86 ±	2,79	4,9 (<0,0001)
RCQ (cm/cm)	30	0,80 ±	0,07	0,77 ±	0,04	3,9 (<0,001)
CALT (m/m)	30	46,21 ±	4,56	45,04 ±	4,13	2,5 (<0,05)
GLC (mg/dL)	30	233,90 ±	107,50	192,79 ±	101,60	1,8 (>0,05) &
Apo B (mg/dL)	32	86,69 ±	23,56	78,69 ±	20,51	2,6 (<0,05)
CT (mg/dL)	32	185,53 ±	42,03	175,75 ±	35,98	2,1 (<0,05)
TG (mg/dL)	32	93,63 ±	50,81	71,78 ±	42,08	2,8 (<0,01)
logTG	32	4,42 ±	0,49	4,24 ±	0,52	2,0 (>0,05) &
HDL-C(mg/dL)	32	53,13 ±	9,21	56,44 ±	14,03	1,7 (>0,05) &
CTHDL	32	3,56 ±	0,92	3,28 ±	1,00	2,1 (<0,05)
TGHDL	32	1,83 ±	1,13	1,62 ±	1,36	1,1 (>0,20)
ABChE (kU/L)	32	5,01 ±	0,85	4,32 ±	0,93	6,1 (<0,00001)
AAB1 (kU/L)	32	0,86 ±	0,37	0,90 ±	0,43	0,6 (>0,50)
AAB2 (kU/L)	32	0,03 ±	0,02	0,03 ±	0,02	0,8 (>0,40)
AAB3 (kU/L)	32	0,03 ±	0,02	0,02 ±	0,02	2,0 (>0,05) &
AAB4 (kU/L)	32	0,68 ±	0,19	0,71 ±	0,24	1,2 (>0,20)
AAB5 (kU/L)	32	0,51 ±	0,23	0,40 ±	0,17	2,7 (<0,05)
AAB6 (kU/L)	32	0,05 ±	0,06	0,04 ±	0,06	0,4 (>0,60)
AAB7 (kU/L)	32	0,17 ±	0,07	0,13 ±	0,06	3,2 (<0,01)

Teste "t" para amostras dependentes. IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; CALT= razão cintura/ altura; PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; logTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C; ABChE = atividade total da BChE. & = valor próximo à significância.

TABELA 16. Médias (M) ± desvios padrões (DP), amplitudes de variação (AV) e resultados de testes t (p) de algumas variáveis que apresentaram modificação após a diminuição nos valores da HbA1c, em DM2 de fenótipo CHE2 C5-

Variáveis	N	Maior HbA1c		Menor HbA1c		t (p)
		M ± DP (AV)	M ± DP (AV)	M ± DP (AV)	M ± DP (AV)	
HbA <sub>1c</sub> (%)	38	8,92 ± 2,15	7,95 ± 1,54			4,8 (<0,0001)
PS (mmHg)	36	138,47 ± 15,62	103,89 ± 8,38			14,2 (<0,00001)
PD (mmHg)	36	86,11 ± 11,28	77,08 ± 10,17			5,1 (<0,0001)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	37	29,96 ± 6,23	28,05 ± 6,06			5,4 (<0,00001)
RCQ (cm/cm)	37	0,94 ± 0,10	0,87 ± 0,08			7,2 (<0,00001)
CALT (m/m)	37	61,16 ± 8,73	52,16 ± 7,71			4,8 (<0,0001)
GLC (mg/dL)	38	190,29 ± 78,19	160,55 ± 72,00			2,5 (<0,05)
Apo B(mg/dL)	38	125,95 ± 32,08	104,76 ± 27,21			5,6 (<0,00001)
CT (mg/dL)	38	236,55 ± 43,04	217,29 ± 47,88			3,9 (<0,001)
TG (mg/dL)	38	182,26 ± 108,03	164,55 ± 95,37			1,7 (>0,10)
logTG	38	5,04 ± 0,58	4,92 ± 0,65			1,8 (>0,05) <sup>&amp;</sup>
HDL-C (mg/dL)	38	45,24 ± 10,87	51,09 ± 14,99			2,6 (<0,01)
CTHDL	38	5,47 ± 1,47	4,58 ± 1,60			3,9 (<0,001)
TGHDL	38	4,49 ± 3,26	4,10 ± 2,93			1,1 (>0,20)
ABChE (kU/L)	38	6,24 ± 1,42	5,61 ± 1,28			27,0 (<0,00001)
AAB1 (kU/L)	38	1,02 ± 0,55	1,37 ± 0,65			4,1 (<0,001)
AAB2 (kU/L)	38	0,05 ± 0,04	0,04 ± 0,04			0,8 (>0,40)
AAB3 (kU/L)	38	0,05 ± 0,05	0,05 ± 0,06			0,1 (>0,90)
AAB4 (kU/L)	38	0,81 ± 0,36	0,97 ± 0,39			3,3 (<0,01)
AAB5 (kU/L)	38	0,60 ± 0,32	0,51 ± 0,31			1,7 (>0,05) <sup>&amp;</sup>
AAB6 (kU/L)	38	0,09 ± 0,08	0,03 ± 0,05			4,8 (<0,0001)
AAB7 (kU/L)	38	0,23 ± 0,10	0,17 ± 0,08			4,3 (<0,0001)

Teste "t" para amostras dependentes. IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; CALT = razão cintura/ altura; PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; ; GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; logTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C; ABChE = atividade total da BChE. <sup>&</sup> = valor próximo à significância.

### 5.3 DIABÉTICOS DE FENÓTIPOS CHE2 C5- e CHE2 C5+

Foram realizadas comparações, das diferentes variáveis, analisadas no presente trabalho, entre os diferentes fenótipos do loco *CHE2* nos pacientes DM1 (TABELA 17) e DM2 (TABELA 18) e também comparações entre os controles destes diabéticos (TABELAS 19). O grupo dos pacientes DM1 apresentou 14 pessoas, de fenótipo CHE2 C5+, sendo 57,2% mulheres e 50% de euro-brasileiros. No grupo dos DM2, foram encontrados 21 indivíduos CHE2 C5+, sendo 71,4% mulheres e 61,9% euro-brasileiros.

Devido ao pequeno número das amostras, não foi possível fazer o pareamento por sexo e idade, entretanto, as amostras de DM1 (8 mulheres) e DM2 (15 mulheres), não diferiram significativamente quanto ao sexo ( $\chi^2 = 0,76$ ;  $p > 0,30$ ). O sexo também não se mostrou significativamente diferente entre DM1 e C (13 mulheres) e entre DM2 e C ( $\chi^2 = 0,10$ ;  $p > 0,70$  e  $\chi^2 = 1,8$ ;  $p > 0,10$ ). Não foram realizadas, também as análises de correlações simples, de regressão múltipla escalonada, e a comparação das médias antes e após a diminuição da HbA1c (voltaram para coleta de amostras somente 6 pacientes DM1 e 9 DM2).

TABELA 17. Médias (M)  $\pm$  desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras de fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+ (DM1)

Variável	N	DM1		N	DM1		t (p)
		CHE2 C5-			CHE2 C5+		
Idade (anos)	90	24,63 $\pm$ 7,35		14	22,36 $\pm$ 5,21		1,1 (>0,20)
PS (mmHg)	88	117,20 $\pm$ 13,67		13	122,31 $\pm$ 16,91		1,2 (>0,20)
PD (mmHg)	88	72,90 $\pm$ 9,25		13	77,69 $\pm$ 11,66		1,7 (>0,05) <sup>&amp;</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	87	23,16 $\pm$ 3,23		13	23,24 $\pm$ 3,90		0,1 (>0,90)
RCQ (cm/cm)	87	0,82 $\pm$ 0,07		13	0,82 $\pm$ 0,07		0,2 (>0,80)
CALT (m/m)	86	48,15 $\pm$ 5,40		13	48,90 $\pm$ 7,36		0,4 (>0,60)
HbA <sub>1c</sub> (%)	90	10,04 $\pm$ 2,35		14	9,20 $\pm$ 2,37		1,2 (>0,20)
Glicose (mg/dL)	87	222,07 $\pm$ 116,56		14	203,93 $\pm$ 107,33		0,5 (>0,50)
Apo B (mg/dL)	90	91,30 $\pm$ 27,20		14	83,64 $\pm$ 25,97		1,0 (>0,30)
CT (mg/dL)	90	188,79 $\pm$ 46,23		14	169,14 $\pm$ 33,62		1,5 (>0,10)
TG (mg/dL)	90	98,26 $\pm$ 53,17		14	91,07 $\pm$ 49,28		0,4 (>0,60)
logTG	90	4,47 $\pm$ 0,47		14	4,39 $\pm$ 0,51		0,6 (>0,50)
HDL-C (mg/dL)	90	50,27 $\pm$ 9,44		14	50,50 $\pm$ 11,03		0,1 (>0,90)
CTHDL	90	3,87 $\pm$ 1,28		14	3,44 $\pm$ 0,81		1,3 (>0,10)
TGHDL	90	2,04 $\pm$ 1,21		14	1,83 $\pm$ 0,84		0,6 (>0,50)
ABChE (kU/L)	90	5,01 $\pm$ 0,95		14	6,29 $\pm$ 1,65		4,2 (<0,0001)
AAB1 (kU/L)	90	0,84 $\pm$ 0,32		14	1,13 $\pm$ 0,44		2,9 (<0,01)
AAB2 (kU/L)	90	0,03 $\pm$ 0,02		14	0,04 $\pm$ 0,02		1,6 (>0,10)
AAB3 (kU/L)	90	0,04 $\pm$ 0,02		14	0,05 $\pm$ 0,02		1,9 (>0,05)
AAB4 (kU/L)	90	0,68 $\pm$ 0,23		14	0,95 $\pm$ 0,28		4,0 (<0,001)
AAB5 (kU/L)	90	0,47 $\pm$ 0,24		14	0,52 $\pm$ 0,20		0,6 (>0,50)
AAB6 (kU/L)	90	0,05 $\pm$ 0,07		14	0,04 $\pm$ 0,04		0,7 (>0,40)
AAB7 (kU/L)	90	0,16 $\pm$ 0,08		14	0,20 $\pm$ 0,10		1,5 (>0,10)

PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; CALT = razão cintura/altura; CT = colesterol total; TG = triglicérides; logTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C; ABChE = atividade total da BChE. <sup>&</sup> = valor próximo à significância.

TABELA 18. Médias (M) ± desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras de fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+ (DM2)

Variável	N	DM2		N	CHE2 C5+	t (p)
		CHE2 C5-				
Idade (anos)	126	54,66 ± 11,73		21	58,10 ± 8,84	1,3 (>0,20)
PS (mmHg)	123	140,45 ± 17,11		21	144,76 ± 17,11	1,1 (>0,20)
PD (mmHg)	123	87,10 ± 10,70		21	89,05 ± 12,21	0,7 (>0,40)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	122	30,19 ± 5,34		21	30,89 ± 4,64	0,6 (>0,50)
RCQ (cm/cm)	120	0,94 ± 0,09		20	0,93 ± 0,06	0,8 (>0,40)
CALT (m/m)	120	62,44 ± 8,07		20	63,04 ± 6,66	0,3 (>0,70)
HbA <sub>1c</sub> (%)	125	8,55 ± 2,07		21	9,31 ± 2,20	1,5 (>0,10)
Glicose (mg/dL)	126	181,44 ± 72,80		21	182,00 ± 57,26	0,1 (>0,90)
Apo B (mg/dL)	126	115,67 ± 30,49		21	112,76 ± 30,77	0,4 (>0,60)
CT (mg/dL)	126	220,68 ± 45,37		21	235,71 ± 80,68	1,2 (>0,20)
TG (mg/dL)	126	179,52 ± 135,39		21	175,95 ± 151,79	0,1 (>0,90)
logTG	126	5,00 ± 0,60		21	4,99 ± 0,56	0,1 (>0,90)
HDL-C (mg/dL)	125	44,17 ± 11,90		20	46,40 ± 11,06	0,8 (>0,40)
CTHDL	125	5,26 ± 1,53		20	4,99 ± 1,40	0,8 (>0,40)
TGHDL	125	4,40 ± 3,49		20	3,35 ± 1,73	1,3 (>0,10)
ABChE (kU/L)	126	6,00 ± 1,43		21	6,89 ± 1,37	2,7 (<0,01)
AAB1 (kU/L)	126	1,06 ± 0,55		21	1,32 ± 0,53	2,0 (<0,05)
AAB2 (kU/L)	126	0,04 ± 0,04		21	0,05 ± 0,03	0,6 (>0,50)
AAB3 (kU/L)	126	0,05 ± 0,04		21	0,05 ± 0,04	0,7 (>0,40)
AAB4 (kU/L)	126	0,84 ± 0,34		21	1,00 ± 0,33	1,9 (>0,05) &
AAB5 (kU/L)	126	0,55 ± 0,27		21	0,64 ± 0,28	1,5 (>0,10)
AAB6 (kU/L)	126	0,07 ± 0,08		21	0,10 ± 0,11	1,5 (>0,10)
AAB7 (kU/L)	126	0,21 ± 0,10		21	0,26 ± 0,13	1,8 (>0,05) &

PS = pressão sistólica; PD = pressão diastólica; IMC = índice de massa corporal; RCQ = razão cintura/quadril; CALT = razão cintura/altura; CT = colesterol total; TG = triglicérides; logTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C; ABChE = atividade total da BChE.

TABELA 19. Médias (M) ± desvios padrões (DP) e resultados de testes t (p) das variáveis analisadas em amostras dos controles de fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+

Variável	Controles		t (p)
	CHE2 C5-	CHE2 C5+	
Idade (anos)	37,21 ± 15,94	40,32 ± 13,10	0,9 (>0,30)
GLC (mg/dL)	86,14 ± 6,46	82,36 ± 5,86	2,8 (<0,01)
CT (mg/dL)	173,72 ± 25,75	121,20 ± 37,67	8,8 (<0,0001)
TG (mg/dL)	96,75 ± 33,34	85,16 ± 17,19	1,7 (>0,05) <sup>&amp;</sup>
logTG	4,52 ± 0,32	4,38 ± 0,29	2,0 (<0,05)
HDL-C (mg/dL)	49,99 ± 12,72	52,44 ± 14,40	0,8 (>0,30)
CTHDL	3,68 ± 1,06	2,46 ± 0,97	5,4 (<0,0001)
TGHDL	2,13 ± 1,17	1,77 ± 0,67	1,5 (>0,10)
ABChE (kU/L)	4,57 ± 1,18	6,29 ± 1,90	6,1 (<0,0001)
AAB1 (kU/L)	0,64 ± 0,37	0,96 ± 0,41	4,0 (=0,0001)
AAB2 (kU/L)	0,04 ± 0,03	0,05 ± 0,04	1,8 (>0,05) <sup>&amp;</sup>
AAB3 (kU/L)	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,03	2,0 (<0,05)
AAB4 (kU/L)	0,57 ± 0,27	0,70 ± 0,32	2,2 (<0,05)
AAB5 (kU/L)	0,60 ± 0,24	0,82 ± 0,38	4,0 (=0,0001)
AAB6 (kU/L)	0,07 ± 0,06	0,13 ± 0,14	3,9 (=0,0001)
AAB7 (kU/L)	0,14 ± 0,06	0,29 ± 0,16	9,0 (<0,0001)

CHE2 C5-, N = 159; CHE2 C5+, N = 25, pareados por idade e sexo. ; GLC = glicose; CT = colesterol total; TG = triglicérides; logTG = logaritmo de TG; CTHDL = razão CT/HDL-C; TGHDL = razão TG/HDL-C; ABChE = atividade total da BChE. Os controles foram pareados por idade e sexo.

<sup>&</sup> = valor próximo à significância.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 AMOSTRA TOTAL

Nos DM1 e DM2, as freqüências do fenótipo CHE2 C5+ foram  $13,46\% \pm 3,35\%$  e  $14,29\% \pm 2,89\%$ , respectivamente. Essas freqüências não diferem ( $p > 0,30$  e  $p > 0,10$ , respectivamente) das encontradas na amostra da população geral de Curitiba por CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al. (1991;  $10,50\% \pm 0,62\%$ ; N = 2.541).

### 6.2 DIABÉTICOS DE TIPO 1 E 2, DE FENÓTIPO CHE2 C5-

Com referência às bandas da BChE, somente serão analisadas as atividades absolutas (AAs), que representam a atividade real de cada banda da enzima. As atividades relativas (AR) foram determinadas com a finalidade de se obter os valores de AA e, além disso, não representam valores efetivos da atividade enzimática. Por exemplo, se dois indivíduos apresentarem os mesmos valores de AR de uma determinada banda, mas possuírem diferentes atividades totais, as AAs desta banda serão diferentes.

Os resultados relacionados a B8 não serão discutidos, uma vez que esta banda é composta pelo conjunto das bandas de maior peso molecular, como tetrâmero e associações heterólogas da BChE.

As freqüências de B6, quando comparadas entre DM1 e DM2 não se mostraram diferentes significativamente ( $\chi^2 = 2,5$ ,  $p > 0,10$ ). Esta banda foi observada por CIPRIANI (2000), em seu trabalho de Iniciação Científica, com freqüência de 60% nas amostras de obesos (N = 121) e 76% nas de não obesos (N = 133), valores significativamente diferentes ( $\chi^2 = 7,2$ ;  $p < 0,01$ ). B6 não teve sua composição descrita na literatura ainda, mas verifica-se que tanto em obesos, quanto em diabéticos (DM1 e DM2), há uma deficiência desta banda, quando comparados aos controles não diabéticos (89%). As freqüências entre DM1 e os

seus controles e entre DM2 e os controles foram significativamente diferentes ( $\chi^2 = 33,0$ ;  $p < 0,00001$  e  $\chi^2 = 19,48$ ;  $p < 0,00001$ , respectivamente).

As freqüências de B2 em DM1 (95,5%), DM2 (88,9%) e nos controles (95,6%) não mostraram diferenças significativas entre DM1 e DM2 ( $\chi^2 = 3,1$ ,  $p > 0,05$ ) e nem entre DM1 e controle ( $\chi^2 = 0,1$ ,  $p > 0,90$ ), porém foi significativamente menor para DM2 quando comparado ao controle ( $\chi^2 = 7,2$ ;  $p < 0,01$ ). Este resultado pode estar relacionado ao fato dos pacientes DM2 apresentarem maiores valores médios de AAB1, dificultando suas leituras. ALVES et al. (2004), em seu trabalho de Iniciação Científica, encontrou freqüências significativamente diferentes para B2 entre homens (91%) e mulheres (58% -  $\chi^2 = 6,32$ ;  $p < 0,05$ ).

As freqüências de B3 para DM1 (95,5%) e DM2 (95,5%) e para os controles (96,86%) não foram significativamente diferentes ( $\chi^2 = 0,3$ ;  $p > 0,80$ ).

### 6.2.1 Comparação entre as médias das diferentes variáveis

Como se pode observar nas comparações entre pacientes DM1 e DM2 (TABELA 3), as médias de todas as variáveis analisadas foram maiores em pacientes DM2, exceto HbA<sub>1c</sub>, glicose e HDL-C, que se mostraram maiores nos DM1. Isto comprova as diferenças entre DM1, que se caracteriza, em linhas gerais, principalmente por distúrbios no metabolismo de carboidratos e DM2, caracterizada por alterações relacionadas principalmente com metabolismo lipídico. Interessante observar também que, nesta análise, os valores de ABChE foram maiores para DM2, confirmando a relação entre ABChE e o metabolismo dos lípidos.

Comparando-se DM1 e seus controles não diabéticos (TABELA 5), observou-se, além de maior média nos níveis de glicose, maiores valores médios de CT, TG, CTHDL e TGHDH explicando por que a ABChE mostrou valores médios mais elevados nos DM1 que nos seus controles, provavelmente em consequência de alterações no metabolismo lipídico que acompanham o quadro de DM1.

Na comparação de DM2 com os controles (TABELA 6), além do maior valor médio no nível de glicose, notam-se valores significativos maiores para os indicadores de dislipidemia (CT, TG e logTG) e de risco cardíaco (CTHDL, TGHDH).

A média maior de logTG demonstra a maior frequência de obesos neste tipo de DM, uma vez que esta variável apresenta relação direta com obesidade visceral (SIBLEY et al., 2003). As elevações de CTHDL e de TGHDL, mostram o maior risco de DAC a que estão expostos estes pacientes (SHAI et al., 2004); TGHDL é um índice que, nos indica o tamanho e a densidade das partículas de LDL (quanto maiores os valores destes índices, menor o tamanho das partículas de LDL e menor sua densidade), mostrando que o grau de influência destas partículas sobre o risco aterogênico é maior nos pacientes DM2 (DOBIASOVA e FROHLICH, 2001). Em relação a ABChE observou-se que a média também foi maior nos DM2, no entanto, verificou-se que os valores de significância para ABChE nos DM1 quando comparados aos seus controles, são maiores que nos DM2, em relação aos seus controles. Isto pode ser explicado pelo fato de os controles dos DM1 apresentarem menor idade e menores valores médios das variáveis lipídicas que os controles dos DM2, porque não apresentam as mesmas alterações metabólicas patológicas observadas nos pacientes DM.

LANG (2004), estudando o comportamento de BChE em mulheres climatéricas antes e após o uso da terapia de reposição hormonal, em sua Dissertação de Mestrado, relatou ter evidenciado a presença de duas bandas eletroforéticas, que ainda não haviam sido observadas nos Laboratórios de Pesquisa em Bioquímica Clínica e de Polimorfismo e Ligação, no Departamento de Genética, da UFPR, e associou o aparecimento destas bandas com o início do período de climatério. Estas bandas, que no presente trabalho corresponde a B2 e B3, estavam ausentes ou muito fracas nas mulheres mais jovens, pré-climatéricas, e apresentaram frequências de 89% para a banda que corresponde a B2 e 94% para a que corresponde a B3, nas mulheres menopausadas. Após uso de terapia de reposição hormonal, observou que a média da AA da banda correspondente a B2 diminuiu significativamente ( $t = 2,22$ ;  $p < 0,05$ ) e que a média da AA da banda que corresponde a B3 também mostrou diminuição, porém não significativa ( $t = 1,40$ ;  $p > 0,10$ ). Verificou ainda que antes da terapia de reposição hormonal ( $N = 54$ ), a banda correspondente a B2 mostrou correlação positiva com  $T_4L$  ( $t = 0,33$ ;  $p < 0,05$ ) e a correspondente a B3, correlação positiva com glicose ( $t = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ); e após a reposição hormonal ( $N = 29$ ), a banda que corresponde a B2 mostrou correlação

positiva com TG ( $t = 0,41$ ;  $p < 0,05$ ) e a que corresponde a B3, correlação positiva com glicose ( $t = 0,37$ ;  $p < 0,05$ ) e T<sub>4</sub>L ( $t = 0,48$ ;  $p < 0,01$ ).

Pode-se observar que as AAB2 e AAB3 mostraram diferenças significativas entre DM1 e DM2 (TABELA 4), característica inexistente quando se realiza a comparação entre DM1 e seus controles (TABELA 5) e DM2 e seus controles (TABELA 6). Isto pode ser explicado pelo fato de que estas bandas apresentam relação com hormônios sexuais, tendo atividades possivelmente relacionadas negativamente com estrogênios (LANG, 2004); as mulheres que compõem o grupo dos DM2 e de seus controles apresentam maiores médias de idade que as do grupo dos DM1 e de seus controles, portanto, é maior a probabilidade que estejam no período de menopausa.

Existe a hipótese de que a produção de BChE seja controlada por fatores sistêmicos, incluindo vários hormônios e tecidos (EDWARDS e BRIMIJOIN, 1983); também de que o estradiol possua efeito inibitório sobre a produção de BChE (GEVORKIAN et al., 1982) bem como os hormônios glicocorticóides (VERJEE et al., 1977; WEBER et al., 1999) e ainda, que a testosterona possua efeito estimulatório (KJELLSTRAND et al., 1985) sobre a produção de BChE. VENKATARAMAN et al. (1990) ainda relatam uma significativa depleção na atividade de BChE durante a gravidez.

Todas estas evidências levam à conclusão que os hormônios sexuais estão intimamente ligados ao controle da secreção de BChE. No entanto, os resultados do presente trabalho sugerem que este controle provavelmente se perca em diabéticos e que as mulheres diabéticas mais jovens apresentam alterações semelhantes às das mulheres climatéricas.

Na comparação entre as AAs das bandas dos DM1 e DM2 (TABELA 4), todas as médias são maiores significativamente para os DM2. O aumento de AAB7 e AAB1 nos pacientes DM2, reflete o aumento da degradação do tetrâmero da BChE, formando trímero e monômero (SAEED et al., 1971) e, estando mais aumentados nos DM2, leva a conclusão que a BChE sofre maior degradação neste tipo de diabetes. Esta afirmativa concorda com os resultados de ALCÂNTARA et al. (1999), que demonstraram ocorrer maior degradação do tetrâmero em obesos com maior formação de trímero e monômero, quando comparados a não obesos.

Existe ainda uma possibilidade que no tecido adiposo haja maior formação destas duas bandas. A síntese de BChE é realizada principalmente no fígado, como dímero de dímeros (WESCOE et al., 1947; LEHMANN et al., 2000), mas também ocorre em outros tecidos, como no tecido adiposo, existindo evidências de que a produção nestes locais seja controlada por mecanismos diferentes dos que controlam a síntese hepática (ORESKOVIC e KUNEC-VAJIC, 1992; POPOVIC et al., 1998). ANNAPURNA et al. (1991) demonstraram que a insulina possui ação inibitória na secreção hepática de BChE. Estas conclusões são suportadas pelo fato de AAB5 (dímero) possuir maior média nos controles dos DM2 e, nestes, maior média que nos DM1, os quais não apresentaram diferença significativa de seus controles. Nos DM2 há maior produção de lipoproteínas, conseqüência do excesso de ácidos graxos provenientes do aumento da lipólise neste tipo de DM, que também tem como característica hiperglicemia. Estes dados corroboram a relação existente entre a síntese da BChE e o metabolismo de lipoproteínas.

O aumento nas atividades médias do monômero ligado à albumina (AAB4) nos DM2, quando comparados aos DM1 (TABELA 4) e aos seus controles (TABELA 6) pode estar relacionado a maior lipólise nos DM2, uma vez que esta banda mostrou estar ausente em obesos sedentários, aparecendo quando os mesmos iniciam exercício e dieta (dados a serem publicados).

Os DM1 também possuem maior lipólise (maior média de AAB4) e maior degradação ou produção extra-hepática de BChE (maiores médias de AAB1 e AAB7) quando comparados aos seus controles, entretanto não possuem aumento de AAB5. Nota-se ser esta uma das principais diferenças entre DM2 e DM1.

### 6.2.2 Correlações entre as variáveis

As análises de correlações serão discutidas juntamente com as análises de regressão múltipla escalonada.

### 6.2.3 Análises de regressão múltipla escalonada

Na TABELA 12, nas análises de regressão múltipla escalonada, tendo as bandas da BChE como variáveis dependentes nos DM1, e como independentes as demais variáveis, observa-se que o IMC correlacionou-se negativamente e significativamente com AAB2, AAB3, AAB5, AAB6 e AAB7. É interessante observar que BChE em diversos trabalhos tem apresentado correlação positiva com peso corporal e IMC (CHAUTARD-FREIRE-MAIA et al., 1991; ALCÂNTARA et al., 2003), enquanto em pacientes DM1 a correlação mostrou-se inversa, o que pode ser explicado pela falta de insulina nestes pacientes, que leva a inibição na deposição de adiposidade tecidual. PD correlacionou-se positiva e significativamente com AAB5, AAB6 e AAB7, mostrando estar relacionada tanto com a produção hepática de BChE (dímero / B5) quanto com a sua degradação (trímero / B7) nos DM1. Com referência à B6, não se conhece sua composição. A glicose mostrou correlação positiva e significativa somente com AAB3; concordando com os resultados obtidos por LANG (2004), que mostrou correlação de AAB3 com glicose em mulheres climatéricas antes e depois de terapia de reposição hormonal. CT apresentou correlação positiva com AAB6 e AAB7, e TG correlacionou-se positivamente com AAB5, corroborando a ligação da BChE com o metabolismo dos lípidos. TGHDL correlacionou-se positiva e significativamente com AAB1, AAB2, AAB3 e AAB4; A relação com AAB1 e AAB2 pode refletir o maior risco de DAC observado em homens, uma vez que aumento de AAB2 foi observado no sexo masculino (ALVES et al., 2004) e com AAB4, como citado anteriormente, com um aumento na lipólise.

AAB1 (monômero) foi a variável que teve sua variância melhor explicada (35%), ou seja o aumento médio de TGHDL e idade com diminuição de PS explicaram 35% da variação de AAB1.

Ainda é notório que, após os ajustes realizados pelas análises de regressão múltipla escalonada, entram na significância algumas variáveis que não apresentam correlação significativa com as AAs das respectivas bandas nas análises de correlação simples (por exemplo, AAB1 e idade; TABELA 7). Algumas variáveis, por outro lado, não foram enquadradas na análise, por apresentarem forte correlação com as variáveis que entraram no modelo (por exemplo: AAB5 que se correlacionou com CT e não com TG - TABELA 10).

Na TABELA 13, as análises de regressão múltipla escalonada, tendo as AAs das bandas da BChE como variáveis dependentes, em pacientes DM2, mostraram que a raça apresentou correlação com AAB3; o que pode refletir a maior predisposição para diabetes e hiperglicemia em indivíduos negróides (BOLEN et al., 2000) e CALT mostrou correlação (+) com AAB1, AAB2, AAB3, AAB4 e AAB5. CALT é um índice agrupador de fatores de risco para DAC, como hipertensão, hiperglicemia, hipertrigliceridemia e baixo HDL-C (HSIEH et al., 2003) e que é capaz de apontar indivíduos com alto risco para DAC, sendo capaz de indicar o risco para diabetes, hipertensão e dislipidemia (SAYEED et al., 2003). As AAs de B1 a B7 se correlacionaram com os indicadores de dislipidemia (Apo B e TG com AAB4; CT com AAB2 e AAB5 e logTG com AAB3) e também com o indicador de risco coronariano CTHDL (correlação com AAB1, AAB6 e AAB7). Somente a idade apresentou correlação negativa com AAB6 e AAB4 (monômero-albumina) mostrando que nos pacientes DM2 a lipólise é maior nos pacientes de menor idade.

AAB1 também teve sua variação melhor explicada nos DM2. O aumento de CTHDL, CALT neste tipo de diabetes explicou 30% da variação de AAB1. Os resultados de CALT e CTHDL mostram o maior risco de DAC, por associação, B1 pode também mostrar este risco.

Pode-se observar, na TABELA 14, que as análises de regressão múltipla escalonada realizada nos controles, mostrou que as AAs das bandas se correlacionaram positiva e significativamente com idade (AAB1 – AAB7) e negativamente com sexo (AAB2, AAB3, AAB4, AAB6 e AAB7 maiores valores médios em homens que em mulheres). A glicose mostrou correlação negativa com AAB5 e AAB6, ou seja, quanto maior a atividade destas bandas, menores os níveis de glicemia nestes indivíduos. CT correlacionou-se positivamente apenas com AAB7 (trímero) e TG com AAB1 (monômero), demonstrando que o aumento na produção destas duas bandas se relacionam com o aumento em suas produções. As AAs de B5 a B7 se correlacionaram com o fator de risco cardíaco CTHDL. AAB6 teve a variação mais bem explicada (39%) na análise de regressão múltipla escalonada, entretanto, não se conhece ainda a composição desta banda.

#### 6.2.4 Comparação das médias das variáveis, analisadas no presente estudo, antes e após a diminuição nos valores de HbA<sub>1c</sub>

Uma vez que a glicação da Hb não é enzimática e os eritrócitos são completamente permeáveis à glicose, a quantidade de HbA<sub>1c</sub> reflete a média da glicemia plasmática a que foram expostas as células, durante seu tempo de vida, que corresponde a aproximadamente 120 dias, e elevações momentâneas na glicemia, afetam muito pouco os valores de HbA<sub>1c</sub> (KAPLAN e PESCE, 1996). Como um dos objetivos no tratamento do diabetes é a manutenção dos valores glicêmicos dentro da faixa de normalidade, sem flutuações importantes, as medidas de HbA<sub>1c</sub> são de grande valia na avaliação da eficácia da terapia. Por exemplo, o decréscimo de 1% no valor de HbA<sub>1c</sub> resulta em melhora do quadro diabético com diminuição de 30% no risco de complicações cardiovasculares (GRIMALDI e HEURTIER, 1999).

Nas TABELAS 15 e 16, pode-se observar que nos DM1 e DM2, respectivamente, a redução média nos valores de HbA<sub>1c</sub>, resultou em diminuições significativas na maioria das variáveis antropométricas e bioquímicas. Isto demonstra uma melhora no quadro metabólico geral. Uma melhora do quadro clínico dos pacientes, após o tratamento já era esperado (GONEN et al., 1985).

ABChE diminuiu significativamente tanto nos DM1, quanto nos DM2.

Com relação as AAs nos DM1, AAB5 (dímero) mostrou diminuição significativa, representando diminuição na síntese hepática de BChE, possivelmente porque estes pacientes fazem uso de insulina no tratamento. AAB3 mostrou redução com valor próximo à significância, demonstrando o controle da glicemia; e AAB7 diminuiu, mostrando menor degradação e/ou síntese extra hepática da BChE. Houve aumento não significativo de AAB4, gerando em emagrecimento dos pacientes após o tratamento, mostrado pelas diminuições significativas nos valores médios de IMC, RCQ e CALT. Algumas variáveis relacionadas ao metabolismo lipídico não apresentaram redução significativa, provavelmente porque, nos DM1, suas alterações não eram tão intensas quanto nos DM2 (TABELA 3).

Resultados semelhantes foram obtidos para os paciente DM2 (TABELA 16), que apresentaram diminuições médias nas AAB7, AAB5, AAB3 (próximo à significância), com aumento médio de AAB4.

Tanto nos DM1 quanto nos DM2 foram observados aumentos de AAB1, o que não era esperado, uma vez que geralmente esta variável acompanha as variações de AAB7, entretanto, parece que com o tratamento a produção extra hepática da BChE gera mais monômero do que trîmero.

### 6.3 ANÁLISES DOS FENÓTIPOS CHE2 C5- E CHE2 C5+

Nas TABELAS 17, 18 e 19 são apresentados respectivamente, os resultados das comparações das variáveis de DM1, DM2 e controles entre os fenótipos de *CHE2*.

Pode-se observar, nas TABELAS 17 e 18, que tanto DM1 quanto DM2 não apresentaram diferenças significativas em relação às variáveis antropométricas e bioquímicas nos fenótipos CHE2 C5- e CHE2 C5+, porém os últimos mostraram maiores médias de ABChE e nas atividade de algumas bandas. DM1 (TABELA 17) mostrou ABChE 25,5% maior nas amostras CHE2 C5+ em relação às amostras CHE2 C5-, e DM2 mostrou ABChE 14,8% maior.

Tanto nos DM1, quanto nos DM2 CHE2 C5+ (TABELAS 17 e 18), AAB1, AAB4 e AAB7 (alguns com valores próximos à significância) apresentaram maiores valores médios sugerindo maior lipólise, e maior degradação e/ou produção extra hepática da BChE neste tipo de fenótipo.

Diferentemente dos diabéticos, os controles (TABELA 19) mostraram diferenças significativas nas médias de algumas variáveis antropométricas e bioquímicas. Os controles CHE2 C5- apresentaram pior perfil metabólico que os CHE2 C5+, com valores mais altos de glicose, CT, TG, logTG, CTHDL, TGHDL e menores de HDL-C. Além disso, ABChE nos CHE2 C5+ mostrou-se 42% maior que nos CHE2 C5-, valor próximo ao apresentado por SIMPSON (1966), que encontrou atividade 48% maior para ABChE em indivíduos CHE2 C5+ de uma população nordestina brasileira em relação a CHE2 C5- e por PRIMO-PARMO et al. (1996), que encontrou aumento de 50% em amostras CHE2 C5+ de índios Pacaás, em relação aos CHE2 C5-. O perfil das bandas da BChE também se mostrou diferente nos controles, com valores significativamente maiores nos CHE2 C5+ para todas as

AAs das bandas, exceto para a banda 5 (diferença não significativa), maior para os CHE2 C5-.

Estas diferenças, observadas nos controles, principalmente em relação aos distúrbios antropométricos e bioquímicos, levam à suposição que os portadores do fenótipo CHE2 C5+ possuam certa proteção relativa quanto aos distúrbios metabólicos e que esta suposta proteção seja perdida nos diabéticos.

## 7. CONCLUSÕES

A) A frequência encontrada do fenótipo CHE2 C5+ na população diabética estudada foi de  $13,46 \pm 3,35$  para diabéticos do tipo 1 e de  $14,29 \pm 2,89$  para os diabéticos tipo 2, não diferindo daquela encontrada na população geral de Curitiba;

B) Diabéticos do fenótipo CHE2 C5- apresentam deficiência da banda 6, cuja composição ainda é desconhecida, da mesma maneira que os indivíduos obesos;

C) Pacientes DM2 do fenótipo CHE2 C5- possuem maior média de ABChE que os DM1 e os não diabéticos, pelo fato de apresentarem alterações mais intensas no metabolismo de lípidos;

D) Nos diabéticos CHE2 C5-, as atividades das bandas 2 e 3 (também de composição ainda desconhecida), apresentaram maiores médias para os DM2, refletindo uma deficiência hormonal nas mulheres de maior idade, em relação às DM1 e às não diabéticas, uma vez que o estrogênio promove inibição na produção de BChE; ainda, como as atividades destas bandas não se mostraram diferentes quando comparados diabéticos com não diabéticos, levanta-se a hipótese que, nos diabéticos, ocorra uma perda deste controle hormonal sobre a produção de BChE;

E) As correlações das bandas com os indicadores de obesidade foram diferentes nos pacientes CHE2 C5- DM1 e DM2, com relação negativa do IMC para os DM1 e positiva de CALT para os DM2, que caracteristicamente são mais obesos. Provavelmente, a correlação negativa nos DM1 seja consequência da falta de insulina, que leva a inibição da deposição periférica de gordura;

F) Em DM2, CHE2 C5-, a banda 3 mostrou correlação com a raça, demonstrando a maior predisposição dos indivíduos negróides a desenvolverem diabetes e quadros de distúrbios do metabolismo da glicose. A banda 4 mostrou correlação negativa com a idade; pode-se concluir que sua atividade se reduz pela diminuição da lipólise e o aumento da deposição de gordura;

G) Nos DM2, CHE2 C5-, observou-se um aumento médio nas AAs de B4 (monômero-albumina), dando indicação de maior lipólise nestes pacientes; B1 (monômero) e B7 (trímero) relacionados a maior degradação e/ou maior produção

extra hepática da BChE e de B5 (dímero) indicando maior produção hepática dos tetrameros.

H) Os DM1 também mostraram aumentos de B1, B4 e B7, porém não de B5, fato este que talvez possa ser usado para diferenciar DM1 de DM2.

I) Após o tratamento, com diminuição da HbA<sub>1c</sub>, a ABChE diminuiu significativamente nos DM1 e DM2, CHE2 C5-, refletindo a melhora no quadro metabólico dos diabéticos;

J) ABChE dos DM1 CHE2 C5+ mostra-se 25,5% maior que dos CHE2 C5-; 14,8% maior nos DM2 e 42% maior nos não diabéticos;

K) A comparação entre os indivíduos não diabéticos CHE2 C5+ e CHE2 C5- mostra que os CHE2 C5+ possuem melhor perfil metabólico que os CHE2 C5-, levando à suposição que o fenótipo CHE2 C5+ dê ao seu portador uma proteção relativa frente a distúrbios metabólicos;

L) As análises envolvendo o fenótipo CHE2 C5+ apresentam uma certa deficiência devido ao pequeno número da amostra, merecendo atenção de pesquisas futuras quanto ao número mais significativo de indivíduos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, V.M.; CIPRIANI, T.R.; REA, R.; SUPLICY, H.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Formas moleculares da butirilcolinesterase (BChE) e índice de massa corporal (IMC). *Gen.and Mol.Biol.*, v.22, n.3, supl., 1999.
- ALCÂNTARA, V.M. Fenótipos da butirilcolinesterase e suas relações com dados antropométricos, bioquímicos-hormonais e pressão arterial, em obesos e na população geral de Curitiba, PR. Curitiba, 2000. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- ALCÂNTARA, V.M.; RODRIGUES, L.C.; OLIVEIRA, L.C.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Association of the *CHE2* locus with body mass index and butyrylcholinesterase activity. *Hum.Biol.*, v.73, p.587-595, 2001.
- ALCÂNTARA, V.M.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; SCARTEZINI, M.; CERCI, M.S.; BRAUN-PRADO, K.; PICHETH, G. Butyrylcholinesterase activity and risk factors for coronary artery disease. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.*, v.62, p.399-404, 2002.
- ALCÂNTARA, V.M.; OLIVEIRA, L.C.; RÉA, R.R.; SUPLICY, H.L.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Butyrylcholinesterase and obesity in individuals with the *CHE2* C5+ and *CHE2* C5- phenotypes. *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disor.*, v.27, p.1557-1564, 2003.
- ALLDERDICE, P.W.; GARDNER, H.A.; LOCKRIDGE, O.; LA DU, B.N.; MCAPLINE, P.J. The cloned butyrylcholinesterase (*BCHE*) gene maps to a single chromosome site, 3q26. *Genomics.*, v.11, p.452-454, 1991.
- ALLES, G.A.; HAWES, R.C. Cholinesterase in the blood of man. *J.Biol.Chem.*, v.133, p.375-390, 1940.
- ALTLAND, K.; GOEDDE, H.W.; HELD, K.; JENSEN, M.; MUNSCH, H.; SOLEM, E. New biochemical and immunological data on quantitative and qualitative variability of human pseudocholesterase. *Humangenetik*, v.14, p.56-60, 1971.
- ALVES, T.M.; ALCÂNTARA, V.M.; PICHETH, G.; SCARTEZINI, M.; RÉA, R.R.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Efeito da estocagem sobre o complexo C<sub>4/5</sub> da butirilcolinesterase. *Rev.Bras.Anal.Clin.*, v.36, supl.5b, 2004.
- ANBER, V.; GRIFFIN, B.A.; McCONNELL, M.; PACKARD, C.J.; SHEPHERD, J. Influence of plasma lipid and LDL-subfraction profile on the interaction between low density lipoprotein with human arterial wall proteoglycans. *Atherosclerosis*, v.124, n.2, p.261-271, 1996.

- ANNAPURNA, V.; SENCIALI, I.; DAVIS, A.J.; KUTTY, K.M. Relationship between serum pseudocholinesterase and triglycerides in experimentally induced diabetes mellitus in rats. *Diabetol.*, v.34, n.5, p.320-324, 1991.
- ARENDE, T.; BRUCKNER, M.K.; LANGE, M.; BIGL, V. Changes in acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease resemble embryonic development: a study of molecular forms. *Neurochem.Int.*, v.21, n.3, p.381-396, 1992.
- ARPAGAUS, M.; KOTT, M.; VATSIS, K.P.; BARTELS, C.F.; LA DU, B.N.; LOCKRIDGE, O. Structure of the gene for human butyrylcholinesterase: evidence for a single copy. *Biochemistry*, v.29, p.124-131, 1990.
- ASHTON, G.C.; SIMPSON, N.E. C5 types serum cholinesterase in a Brazilian population. *Am.J.Hum.Genet.*, v.18, p.438-447, 1966.
- AUGUSTINSSON, K.B. Determination of activity of cholinesterases. *Methods.Biochem.Anal.*, suppl., p.217-73, 1971.
- AUGUSTINSSON, K.B.; BARR, M. Age variation in plasma arylesterase activity in children. *Clin.Chim.Acta*, p.568-573, 1963.
- AUSTIN, L.; BERRY, W.K. Two selective inhibitors of cholinesterase. *Biochem.J.*, v.54, p.695-700, 1953.
- BALLANTYNE, B. Histochemical and biochemical aspects of cholinesterase activity of adipose tissue. *Arch.Int.Pharmacodyn.Ther.*, v.173, p.343-350, 1968.
- BARTELS, C.F.; JENSEN, F.S.; LOCKRIDGE, O.; VAN DER SPEK, A.F.; RUBINSTEIN, H.M.; LUBRANO, T.; LA DU, B.N. DNA mutation associated with the human butyrylcholinesterase K-variant and its linkage to the atypical mutation and other polymorphic sites. *Am.J.Hum.Genet.*, v.50, p.1086-1103, 1992a.
- BARTELS, C.F.; JAMES, K.; LA DU, B.N. DNA mutations associated with the human butyrylcholinesterase J-variant. *Am.J.Hum.Genet.*, v.50, p.1104-1114, 1992b.
- BERBER, A.; GOMEZ-SANTOS, R.; FANGHANEL, G.; SANCHEZ-REYES, L. Anthropometric indexes in the prediction of type 2 diabetes mellitus, hypertension and dyslipidemia in a Mexican population. *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord.*, v.25, n.12, p.1794-1799, 2001.
- BERGSTROM, R.W.; NEWELL-MORRIS, L.L.; LEONETTI, D.L.; SHUMAN, W.P.; WAHL, P.W.; FUJIMOTO, W.Y. Association of elevated fasting C-peptide level and increased intra-abdominal fat distribution with development of NIDDM in Japanese-American men. *Diab.*, v. 39, p. 104-111, 1990.
- BERNEIS, K.K.; KRAUSS, R.M. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J.Lipid Res.*, v.43, n.9, p.1363-1379, 2002.

- BIERMAN, E.L. Atherogenesis in diabetes. *Arterioscler. Thromb.*, v. 12, p. 647-656, 1992.
- BOLEN, J.C.; RHODES, L.; POWELL-GRINER, E.E.; BLAND, S.D.; HOLTZMAN, D. State-specific prevalence of selected health behaviors, by race and ethnicity- Behavioral Risk Factor Surveillance System. *MMWR CDC Surveill.Summ.*, v.49, n.2, p.1-60, 2000.
- BOUTIN, D.; BRODEUR, J. Human serum pseudocholinesterases: molecular weight estimation of a subunit structure. *Can.J.Physiol.Pharmacol.*, v.49, p.777-779, 1971.
- BRAY, G.A.; BOUCHARD, C.; JAMES, W.P.T. Handbook of obesity. New York: Marcel Dekker, 1998.
- BROCK, A.; BROCK, V. Plasma cholinesterase activity in a healthy population group with no occupational exposure to known cholinesterase inhibitors: relative influence of some factors related to normal inter- and intra-individual variations. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.*, v.50, p.401-408, 1990.
- CHAN, J.M.; RIMM, E.B.; COLDITZ, G.A.; STAMPFER, M.J.; WILLET, W.C. Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diab. Care*, v.17, p.961-969, 1994.
- CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; PRIMO-PARMO, S.L.; CANEVER DE LOURENÇO, M.A.; CULPI, L. Frequencies of atypical serum cholinesterase among Caucasians and Negroes from southern Brazil. *Hum.Hered.*, v.34, p. 388-392, 1984.
- CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; PRIMO-PARMO, S.L.; PICHETH, G.; LOURENÇO, M.A.; VIEIRA, M.M. The C5 isozyme of serum cholinesterase and adult weight. *Hum.Hered.*, v.41, p.330-339, 1991.
- CHIU, Y.C.; TRIPATHI, R.K.; O'BRIEN, R.D. Differences in reactivity of four butyrylcholinesterase isozymes towards substrate and inhibitors. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, v.46, n.1, p.35-42, 1972.
- CIPRIANI, T.R. Estudo das diferentes bandas da butirilcolinesterase (BChE) com relação ao índice de nutrição (IN). Curitiba, 1999. 17f. Relatório Técnico-Científico de Iniciação Científica – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- CIPRIANI, T.R.; Formas moleculares da butirilcolinesterase (BChE) e suas relações com dados de características gerais, bioquímicos e hormonais em obesos e seus controles. Curitiba, 2000. 16f. Relatório Técnico-Científico de Iniciação Científica – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

- CLITHEROW, J.W.; MITCHARD, M.; HARPER, N.J. The possible biological function of pseudocholinesterase. *Nature*, v.7, p.1000-1001, 1963.
- COKUGRAS, A.N. Butyrylcholinesterase: structure and physiological importance. *Turk.J.Biochem.*, v.28, p.54-61, 2003.
- COLDITZ, G.A.; WILLET, W.C.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; HENNEKENS, C.H.; ARKY, R.A.; SPEIZER, F.E. Weight as a risk factor for clinical diabetes in women. *Am. J. Epidemiol.*, v. 132, p. 501-513, 1990.
- CROOK, M.; HAQ, M.; TUTT, P. Serum lipids, acute phase proteins and serum cholinesterase in normal subjects. *Scand.J.Clin.Lab.Invest.*, v.54, p.601-603, 1994.
- CUCUIANU, M.; POPESCU, T.A.; HARAGUS, S. Pseudocholinesterase in obese and hyperlipemic subjects. *Clin.Chim.Acta*, v.22, p.151-155, 1968.
- CUCUIANU, M.; POPESCU, T.A.; OPINCARU, A.; HARAGUS, S. Serum pseudocholinesterase and ceruloplasmin in various types of hyperlipoproteinemia. *Clin.Chem.Acta*, v.22, p.19-27, 1975.
- CUCUIANU, M.; NISTOR, T.; HANCU, N.; ORBAI, P.; MUSCUREL, C.; STOIAN, I. Serum cholinesterase activity correlates with serum insulin, C-peptide and free-fatty acids levels in patients with type 2 diabetes. *Rom.J.Intern.Med.*, v.40, p.43-51, 2002.
- DALE, H.H. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J.Pharmacol.Exptl.Therap.*, v.6, p.147-190, 1914.
- DEUTSCH, S.I.; CAMPBELL, M. Status of cholinesterase activities in blood in neuropsychiatric disorders. *Neurochem.Res.*, v.9, n.7, p.863-869, 1984.
- DIETZ, A.A.; RUBINSTEIN, H.M.; LUBRANO, T. Colorimetric determination of serum cholinesterase and its genetic variants by the propionylthiocholine-dithiobis (nitrobenzoic acid) procedure. *Clin. Chem.*, v.19, p.1309-13, 1973.
- DJOJODIBROTO, R.D.; SANTOSO, B.; NGATIDJAN, SOETRISNO, U. Serum cholinesterase activity in patients with dengue haemorrhagic fever. *Trop.Geogr.Med.*, v.30, p.351-353, 1978.
- DOBIASOVA, M.; FROHLICH, J. The plasma parameter log(TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apo-B-lipoprotein-depleted plasma (FERHDL). *Clin.Biochem.*, v.34, p.583-588, 2001.
- DREYFUS, P.A.; SCIDMAN, S.; PINCON-RAYMOND, M.; RIEGER, F.; SCHEIJTER, E. ZAKUT, H.; SOREQ, H. Tissue-specific processing and polarized compartmentalization of clone-produced cholinesterase in microinjected *Xenopus* oocytes. *Cell.Mol.Neurobiol.*, v. 9; p. 323-341, 1989.

- DUBBS, C.A. Ultrasonic effects on isoenzymes. *Clin.Chem.*, v.12, p.181-186, 1966.
- EDWARDS, J.A.; BRIMIJOIN, S. Effects of hypophysectomy on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the rat. *Biochem. Pharmacol.*, v.32, n.7, p.1183-1189, 1983.
- EIBERG, H.; NIELSEN, L.S.; KLAUSEN, J.; DAHLEN, M.; KRISTENSEN, M.; BISGAARD, M.L.; MOLLER, N.; MOHR, J. Linkage between serum cholinesterase 2 (*CHE2*) and gamma-crystallin gene cluster (*CRYG*): assignment to chromosome 2. *Clin.Genet.*, v.35, p.313-321, 1989.
- EVANS, R.T.; WROE, J. Is serum cholinesterase activity a predictor of succinylcholine sensitivity? An assessment of four methods. *Clin. Chem.*, v.24, n.10, p.1762-66, 1978.
- FREDRICKSON, D.S.; LEE, R.S. A system for phenotyping hyperlipoproteinemia. *Circulation*, v.31, p.321-327, 1965.
- FRIEDRICH, U.; VETTER, R.; WEISS, H.; HENTSCHEL, H. Quantitative investigations of acetylcholinesterase activities in colorectal malformations. *Eur.J.Pediatr.Surg.*, v.4, suppl.6, p.352-357, 1994.
- FROHLICH, J.; DOBIASOVA, M. Fractional esterification rate of cholesterol and ratio of triglycerides to HDL-cholesterol are powerful predictors of positive findings on coronary angiography. *Clin.Chem.*, v.49, n.11, p.1873-1880, 2003.
- FUJIOKA, S.; MATSUZAWA, Y.; TOKUNAGA, K.; TARUI, S. Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabol.*, v.36, p.54-59, 1987.
- FUNNEL, H.S.; OLIVER, W.T. A quantitative method for the determination of cholinesterase activity after starch-gel electrophoresis. *Can.J.Biochem.*, v.44, p.953-955, 1966.
- GALLANGO, M.L.; ARENDS, T. Phenotypical variants in myeloma patients. *Humangenetik*, v.7, p.104-108, 1969.
- GARRY, P.J.; DIETZ, A.A.; LUBRANO, T.; FORD, P.C.; JAMES, K.; RUBINSTEIN, H.M. New allele at cholinesterase locus 1. *J.Med.Genet.*, v.13, p.38-42, 1976.
- GAUGHAN, G.; PARK, H.; PRIDDLE, J.; CRAIG, I.; CRAIG, S. Refinement of the localization of human butyrylcholinesterase to chromosome 3q26.1-q26.2 using a PCR-derived probe. *Genomics*, v.11, p.455-458, 1991.
- GEVORKIAN, E.S.; SARKISIAN, E.G.; PANOSIAN, G.A. Induction of various enzymes in the rabbit uterus with estradiol. *Vopr.Med.Khim.*, v.26, n.6, p.45-48, 1982.

- GHOOSI, A.M.; MALAVIYA, G.N.; KASHYAP, A. A comparative study of LDH & PChE in sera of cancer patients: a preliminary report. *Indian J.Cancer*, v.17, p.31-33, 1980.
- GILSON, M.K.; STRAATSMA, T.P.; McCAMMON, J.A.; RIPOLL, D.R.; FAERMAN, C.H.; AXELSEN, P.H.; SILMAN, I.; SUSSMAN, J.L. Open "back door" in a molecular dynamics simulation of acetylcholine. *Science*, v.263, p.1276-1278, 1994.
- GOMEZ, J.L.; GARCIA-AYLLON, M.S.; CAMPOY, F.J.; VIDAL, C.J. Muscular dystrophy alters the processing of light acetylcholinesterase but not butyrylcholinesterase forms in liver of Lama2(dy) mice. *J.Neurosci.Res.*, v.62, suppl.1, p.134-145, 2000.
- GONEN, B.; WHITE, N.; SCHONFELD, G.; SKOR, D.; MILLER, P.; SANTIAGO, J. Plasma levels of apoprotein B in patients with diabetes mellitus: the effect of glycemic control. *Metabolism.*, v.34, n.7, p.675-679, 1985.
- GOTTO, A.M.Jr. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. *Am.J.Cardiol.*, v.82, suppl.9A, p.22Q-25Q, 1998.
- GRIFFIN, B.A.; FREEMAN, D.J.; TAIT, G.W.; THOMSON, J.; CASLAKE, M.J.; PACKARD, C.J.; SHEPHERD, J. Role of plasma triglyceride in the regulation of plasma low density lipoprotein (LDL) subfractions: relative contribution of small, dense LDL to coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*, v.106, n.2, p.141-153, 1994.
- GRIMALDI, A.; HEURTIER, A. Epidemiology of cardio-vascular complications of diabetes. *Diabetes Metab.*, 25, suppl.3, p.12-20, 1999.
- GUTSCHE, B.B.; SCOTT, E.M.; WRIGHT, R.C. Hereditary deficiency of pseudochoolinesterase in Eskimos. *Nature*, v.215, p.322-323, 1967.
- HADA, T.; YAMAWAKI, M.; MORIWAKI, Y.; TAMURA, S.; YAMAMOTO, T.; AMURO, Y.; NABESHIMA, K.; HIGASHINO, K. Hypercholinesterasemia with isoenzymic alteration in a family. *Clin.Chem.*, v.31, suppl.12, p.1997-2000, 1985.
- HADA, T.; OHUE, T.; IMANISHI, H.; NAKAOKA, H.; HIROSAKI, A.; FUJIKURA, M.; AMURO, Y.; HIGASHINO, K. Alterations of serum cholinesterase isozyme in patients with liver cirrhosis. *Clin.Chim.Acta*, v.178, suppl.1, p.111-112, 1988.
- HARRIS, H.; HOPKINSON, D.A.; ROBSON, E.B. Two-dimensional electrophoresis of pseudochoolinesterase components in normal human serum. *Nature*, v.29, p.1296-1298, 1962.
- HARRIS, H.; HOPKINSON, D.A.; ROBSON, E.B.; WHITTAKER, M. Genetical studies on a new variant of serum cholinesterase detected by electrophoresis. *Ann.Hum.Genet.*, v.26, p.359-382, 1963.

- HARRIS, H.; WHITTAKER, M. Differential inhibition of human serum cholinesterase with fluoride: recognition of two new phenotypes. *Nature*, v.29, p.496-498, 1961.
- HARRIS, H.; ROBSON, E.B. Fractionation of human serum cholinesterase components by gel filtration. *Biochim.Biophys.Acta*, v.6, p.649-652, 1963.
- HART, S.M.; MITCHELL, J.V. Suxamethonium in the absence of pseudocholinesterase. *Br.J.Anaesth.*, v.34, p.207-209, 1962.
- HAUPT, H.; HEIDE, K.; ZWISLER, O.; SCHWICK, HG. Isolation and physico-chemical characterization of cholinesterase in human serum. *Blut*, v.14, p.65-75, 1966.
- HSIEH, S.D.; MUTO, T. A simple and practical index for assessing the risk of metabolic syndrome during routine health checkups. *Nippon Rinsho*, v.62, n.6, p.1143-1149, 2004.
- HSIEH, S.D.; YOSHINAGA, H.; MUTO, T. Waist-to-height ratio, a simple and practical index for assessing central fat distribution and metabolic risk in Japanese men and women. *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord.*, v.27, n.5, p.610-616, 2003.
- HUANG, K.C.; LIN, W.Y.; LEE, L.T.; CHEN, C.Y.; LO, H.; HSIA, I.L.; SHAU, W.Y.; LIN, R.S. Four anthropometric indices and cardiovascular risks factors in Taiwan. *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord.*, v.26, n.8, p.1060-1068, 2002.
- JAGANATHAN, L.; BOOPATHY, R. A direct method to visualize the acylamidase activity on cholinesterases in polyacrylamide gels. *BMC Biochem.*, v.1, n.1, p.3. Epub 2000.
- JENSEN, F.S.; BARTELS, C.F.; LA DU, B.N. Structural basis of butyrylcholinesterase H-variant segregating in two Danish families. *Pharmacogenetics*, v.2, p.234-240, 1992.
- JUUL, P. Human plasma cholinesterase isoenzymes. *Clin.Chim.Acta*, v.19, p.205-213, 1968.
- KALOW, W.; GENEST, K.; STARON, N. Kinetic studies on the hydrolysis of benzoylcholine by human serum cholinesterase. *Can.J.Med.Sci.*, v.34, p.637-653, 1956.
- KALOW, W.; GENEST, K. A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterase: determination of dibucaine numbers. *Can.J.Med.Sci.*, v.35, p.339-346, 1957.
- KALOW, W. The distribution and elimination of muscle relaxants. *Anesthesiology*, v.20, p.505-518, 1959.

- KAPLAN, L.A.; PESCE, A.J. Clinical chemistry: theory, analysis and correlation. 3ed.; Mosby-Year Book, St.Louis.
- KARIO, K.; MATSUO, T. Serum uric acid and factor VII hyperactivity in the elderly. Nippon Ronen Igakkai Zasshi, v.28, p.668-6671, 1991.
- KARLINSKII, V.M.; FALIKOVICH, M.Ia.; ISKAKOV, B.S.; BEISETAEV, O.B.; BARANOV, N.P.; BEKENOVA, F.K. Clinical value of measuring the activity of serum cholinesterase and its isoenzyme in chronic hepatitis and liver cirrhosis. Klin.Med.(Mosk), v.69, supl.6, p.85-87, 1991.
- KJELLSTRAND, P.; BJERKEMO, M.; ADLER-MAIHOFER, M.; HOLMQUIST, B. Effects of solvent exposure on testosterone levels and butyrylcholinesterase activity in mice. Acta. Pharmacol.Toxicol.(Copenh.), v.57, supl.4, p.242-249, 1985.
- KODAK 1D. Image analysis software for windows. v.3.5, New York, 1994-2000. 1CD-ROM.
- KORENOVSKY, A.; LAEV, H.; MUKHERJEE, S.; MAHADIK, S.P. Quantitative analysis of plasma cholinesterase isozymes in haloperidol treated rats. Biol.Psychiatry, v.27, supl.8, p.871-883, 1990.
- KRAUSE, A.; LANE, A.B.; JENKINS, T. A new high activity plasma cholinesterase variant. J.Med.Genet., v.25, p.677-681, 1988.
- KRONMAN, C.; VELAN, B.; MARCUS, D.; ORDENTLICH, A.; REUVENY, S.; SHAFFERMAN, A. Involvement of oligomerization, N-glycosylation and sialylation in the clearance of cholinesterases from the circulation. Biochem.J., v.311, p.959-967, 1995.
- KRONMAN, A.; CHITLARU, T.; ELHANANY, E.; VELAN, B.; SHAFFERMAN, A. Hierarchy of post-translational modifications involved in the circulatory longevity of glycoproteins. Demonstration of concerted contributions of glycan sialylation and subunit assembly to the pharmacokinetic behavior of bovine acetylcholinesterase. J.Biol.Chem., v.275, p.29488-29502, 2000.
- KUTTY, K.M. Possible link between cholinesterase activity and lipoprotein. Am.J.Clin.Pathol., v.58, p.599, 1972.
- KUTTY, K.M.; ACHARYA, C.D. Serum cholinesterase and lipoproteins: a possible relationship. Scand.J.Clin.Lab.Invest., v.29, supl.26; res.3.28, 1972.
- KUTTY, K.M.; ROWDEN, G.; COX, A.R. Interrelationship between serum –lipoprotein and cholinesterase. Can.J.Biochem., v.51, p.883-887, 1973.
- KUTTY, K.M.; JOCOB, J.C.; HUTTON, C.J.; DAVIS, P.J.; PETERSON, S.C. Serum beta-lipoproteins: studies in a patient and guinea pigs after the ingestion of organophosphorus compounds. Clin.Biochem., v.8, p.379-383, 1975.

- KUTTY, K.M.; REDHEENDRAN, R.; MURPHY, D. Serum cholinesterase: function in lipoprotein metabolism. *Experientia*, v.15, p.420-422, 1977.
- KUTTY, K.M. Biological function of cholinesterase. *Clin.Biochem.*, v.13, p.239-243, 1980.
- LA DU, B.N.; DEWALD, B. Genetic regulation of plasma cholinesterase in man. *Adv.Enzyme Regul.*, v.9, p.317-332, 1970
- LA DU, B.N.; BARTELS, C.F.; NOGUEIRA, C.P.; ARPAGAU, M.; LOCKRIDGE, O. Proposed nomenclature for human butyrylcholinesterase genetic variants identified by DNA sequencing. *Cell Mol.Neurobiol.*, v.11, p.79-89, 1991.
- LA MOTTA, R.V.; MCCOMB, R.B.; NOLL Jr., C.R.; WETSTONE, H.J.; REINFRANK, R.F. Multiple forms of serum cholinesterase. *Arch.Biochem.Biophys.*, v.124, p.299-308, 1968.
- LANG, M.T.G. Butirilcolinesterase, outras variáveis bioquímico-hormonais e índice de massa corporal em mulheres climatéricas, antes e após terapia de reposição hormonal. Curitiba, 2004. *Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.*
- LAWRENCE, S.H.; MELNICK, P.J. Enzymatic activity related to human serum beta-lipoprotein: histochemical immunoelectrophoretic and quantitative studies. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, v.107, p.998-1001, 1961.
- LEHMANN, H.; SILK, E. Suciinylmonocholine. *Br.Med.J.*, v.4, p.767-768, 1953.
- LEHMANN, D.J.; NAGY, Z.; LITCHFIELD, S.; BORJA, M.C.; SMITH, A.D. Association of butyrylcholinesterase K variant with cholinesterase-positive neuritic plaques in the temporal cortex in late-onset Alzheimer's disease. *Human Genet.*, v.106, p.447-452, 2000.
- LEHTO, S.; RÖNNEMAA, T.; HAFFNER, S.M.; PYÖRÄLÄ; KALLIO, V.; LAAKSO, M. Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-aged patients with NIDDM. *Diabetes*, v.46, p.1354-1359, 1997.
- LEMBERG, A.; MACCHI, M.C. Usefulness of serum pseudocholinesterase isoenzymes in acute and chronic liver diseases and neoplasms (experimental and clinical studies). *Acta Gastroenterol.Latinoam.*, v.11, supl.1, p.125-132, 1981.
- LEU, H.B.; LIN, C.P.; LIN, W.T.; WU, T.C.; CHEN, J.W. Risk stratification and prognostic implications of plasma biomarkers in nondiabetic patients with stable coronary artery disease: the role of high-sensitivity C-reactive protein. *Chest*. v.126, n.4, p.1032-1039, 2004.

- LIAO, J.; HEIDER, H.; SUN, M.C.; BRODBECK, U. Different glycosylation in acetylcholinesterase of mammalian brain and erythrocytes. *J.Neurochem.*, v.58, p.1230-1238, 1992.
- LIDELL, J.; LEHMANN, H.; DAVIES, D.; SAHIRI, A. Physical separation of pseudocholinesterase variants in human serum. *Lancet*, v.12, p.202-203, 1962.
- LOCKRIDGE, O.; LA DU, B.N. Amino acid sequence of the active site of human serum cholinesterase from usual, atypical, and atypical-silent genotypes. *Biochem.Genet.*, v.24, p.485-498, 1986.
- LOCKRIDGE, O.; ECKERSON, H.W.; LA DU, B.N. Interchain disulfide bonds and subunits organization in human serum cholinesterase. *J.Biol.Chem.*, v.10, p.8324-8330, 1979.
- LOCKRIDGE, O.; BARTELS, C.F.; VAUGHAN, T.A.; WONG, C.K.; NORTON, S.E.; JOHNSON, L.L. Complete amino acid sequence of human serum cholinesterase. *J.Biol.Chem.*, v.15, p. 549-557, 1987a.
- LOCKRIDGE, O. Substance P, hydrolysis by human serum cholinesterase. *J.Neurochem.*, v.39, p.106-110, 1982.
- LOCKRIDGE, O. Genetic variants of human serum cholinesterase influence metabolism of the muscle relaxant succinylcholine. *Pharmacol.Ther.*, v.47, p.35-60, 1990.
- LYLES, J.M.; BARNARD, E.A.; SILMAN, I. Changes in the levels and forms of cholinesterases in the blood plasma of normal and dystrophic chickens. *J.Neurochem.*, v.34, suppl.4, p.978-987, 1980.
- MAGARIAN, E.O.; DIETZ, A.J. Correlation of cholinesterases with serum lipids and lipoproteins. *J.Clin.Pharmacol.*, v.27, p.819-820, 1987.
- MAISON, P.; BYRNE, C.D.; HALES, C.N.; DAY, N.E.; WAREHAM, N.J. Do different dimensions of the metabolic syndrome change together over time? Evidence supporting obesity as the central feature. *Diab.Care*, v.24, p.1758-1763, 2001.
- MALMSTROM, R.; PACKARD, C.J.; CASLAKE, M.; BEDFORD, D.; STEWART, P.; YKI-JARVINEN, H.; SHPEPHERD, J.; TASKINEN, M.R. Defective regulation of triglyceride metabolism by insulin in the liver in NIDDM. *Diabetol.*, v.40, n.4, p.454-462, 1997.
- MASSON, P. Multiple molecular forms of human plasma butyrylcholinesterase. I.Apparent molecular parameters and broad pattern of the quaternary structure. *Bioch.Biophys.Acta*, v.19, p.493-504, 1979.
- MASSON, P. A naturally occurring molecular form of human plasma cholinesterase is an albumin conjugate. *Biochim.Biophys.Acta*, v.19, p.258-266, 1989.

- MASSON, P. Molecular heterogeneity of human cholinesterase. In: MASSOULIÉ, J. et al. Cholinesterase: structure, function, mechanisms, genetics and cell biology. Washington, DC: American Chemical Society, 1991.
- McGUIRE, M.C.; NOGUEIRA, C.P.; BARTELS, C.F.; LIGHTSTONE, H.; VAN DER SPEK, A.F.; LOCKRIDGE, O. LA DU, B.N. Identification of the structural mutation responsible for the dibucaine-resistant (atypical) variant form of human serum cholinesterase. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v.86, p.953-957, 1989.
- McQUEEN, J.M. Clinical and analytical considerations in the utilization of cholinesterase measurements. *Clin.Chim.Acta*, v.237, p.91-105, 1995.
- McTIERNAN, C.; ADKINS, S.; CHATONNET, A.; VAUGHAN, T.A.; BARTELS, C.F.; KOTT, M.; ROSENBERRY, T.L.; LA DU, B.N.; LOCKRIDGE, O. Brain cDNA clone for human cholinesterase. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v.84, p.6682-6686, 1987.
- MILECH, A. et al. Consenso brasileiro sobre diabetes: diagnóstico e classificação do diabetes mellitus e tratamento do diabetes mellitus tipo 2. Sociedade Brasileira de Diabetes. 2001.
- MILLARD, C.B.; BROOMFIELD, C.A. a computer model of glycosylated human butyrylcholinesterase. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, v.189, p.1280-1286, 1992.
- MOLARIUS A.; SEIDELL, J.C.; VISSCHER, T.L.; HOFMAN, A. Misclassification of high-risk older subjects using waist action levels established for young and middle-aged adults: results from the Rotterdam Study. *J.Am.Geriatr.Soc.*, v.48, n.12, p.1638-1645, 2000.
- MUENSCH, H.; GOEDDE, H.W.; YOSHIDA, A. Human-serum cholinesterase subunits and number of active sites of the major component. *Eur.J.Biochem.*, v.1, p.217-223, 1976.
- NACHON, F.; NICOLET, Y.; VIGUIÉ, N.; MASSON, P.; FONTECILLA-CAMPS, J.C.; LOCKRIDGE, O. Engineering of a monomeric and low-glycosylated form of human butyrylcholinesterase. *Eur.J.Biochem.*, v.269, p.630-637, 2002.
- NAGARETANI, H.; NAKAMURA, T.; FUNAHASHI, T.; KOTANI, K.; MIYANAGA, M.; TOKUNAGA, K.; TAKAHASHI, M.; NISHIZAWA, H.; KISHIDA, K.; KURIYAMA, H.; HOTTA, K.; YAMASHITA, S.; MATSUZAWA, Y. Visceral fat is a major contributor for múltiple risk factor clustering in japanese men with impaired glucose tolerance. *Diab. Care*, v.24, n.12, p.2127-2133, 2001.
- NEITLICH, H.W. Increased plasma cholinesterase activity and succinylcholine resistance: a genetic variant. *J.Clin.Invest.*, v.45, p.380-387, 1966.

- NICOLET, Y.; LOCKRIDGE, O.; MASSON, P.; FONTECILLA-CAMPS, J.C.; NACHON, F. Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *J.Biol.Chem.*, v.278, p.41141-41147, 2003.
- NIGON, F.; LESNIK, P.; ROUIS, M.; CHAPMAN, M.J. Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J.Lipid Res.*, v.32, n.11, p.1741-1753, 1991.
- NOGUEIRA, C.P.; MCGUIRE, M.C.; GRAESER, C.; BARTELS, C.F.; ARPAGAUS, M.; VAN DER SPEK, A.F.; LIGHTSTONE, H.; LOCKRIDGE, O.; LA DU, B.N. Identification of a frameshift mutation responsible for the silent phenotype of human serum cholinesterase, Gly 117 (GGT----GGAG). *Am.J.Hum.Genet.*, v.46, p.934-942, 1990.
- NOGUEIRA, C.P.; BARTELS, C.F.; MCGUIRE, M.C.; ADKINS, S.; LUBRANO, T.; RUBINSTEIN, H.M.; LIGHTSTONE, H.; VAN DER SPEK, A.F.; LOCKRIDGE, O.; LA DU, B.N. Identification of two different point mutations associated with the fluoride-resistant phenotype for human butyrylcholinesterase. *Am.J.Hum.Genet.*, v.51, p. 821-828, 1992.
- NOVACEK, G.; VOGELSANG, H.; GENSER, D.; MOSER, G.; GANGL, A.; EHRINGER, H.; KOPPENSTEINER, R. Changes in blood rheology caused by Crohn's disease. *Eur.J.Gastroenterol.hepatol.*, v.8, suppl.11, p.1089-1093, 1996.
- ORESKOVIC, K.; KUNEC-VAJIC, E. Pseudocholinesterase in alloxan-diabetic rats. *Res.Commun.Chem.Pathol.Pharmacol.*, v.78, p.117-120, 1992.
- ORTONNE, J.P.; KHATCHADOURIAN, C.; VOULOT, C.; MENEZO, Y. Cholinesterase isoenzymes: a comparative study in the skin and plasma. *J.Invest.Dermatol.*, v.73, suppl.3, p.239-242, 1979.
- PACKARD, C.J.; SHEPHERD, J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler.Throm.Vasc.Biol.*, v.17, n.12, p.3542-3556, 1997.
- PACKARD, C.J.; DEMANT, T.; STEWART, J.P.; BEDFORD, D.; CASLAKE, M.J.; SCHWERTFEGER, G.; BEDYNEK, A.; SHEPHERD, J.; SEIDEL, D. Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J.Lipid.Res.*, v.41, n.2, p.305-318, 2000.
- PACKARD, C.J. Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem.Soc.Trans.*, v.31, n.5, p.1066-1069, 2003.
- PANTUCK, E.J. Plasma cholinesterase gene and variations. *Anesth.Analg.*, v.77, p.380-386, 1993.

- PANZRAM, G. Mortality and survival in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetol.*, v.30, p.123-131, 1987.
- PASCOT, A.; DESPRES, J.P.; LEMIEUX, I.; BERGERON, J.; NADEAU, A.; PRUD'HOMME, D.; TREMBLAY, A.; LEMIEUX, S. Contribution of visceral fat obesity to the deterioration of the metabolic risk profile in men with impaired glucose intolerance. *Diabetol.*, v.43, p.1126-1135, 2000.
- PAVKOVIC, E.; SIMEON, V.; REINER, E.; SUCIC, M.; LIPOVAC, V. Serum paraoxonase and cholinesterase activities in individuals with lipid and glucose metabolism disorders. *Chem.Biol.Interact.*, v.87, p.179-182, 1993.
- POPOVIC, L.; ORESKOVIC, K.; ZUPANIC, B.; PETRUNIC, M.; KUNEC-VAJIC, E. The relation between plasma lipid levels and pseudocholinesterase activity in hypothyroidism. *Horm.Metab.Res.*, v.30, p.137-140, 1998.
- PRIMO-PARMO, S.L.; BARTELS, C.F.; WIERSEMA, B.; VAN DER SPEK, A.F.L.; INNIS, J.W.; LA DU, B.N. Characterisation of 12 silent alleles of the human butyrylcholinesterase (*BCHE*) gene. *Am.J.Genet.*, v.58, p.52-64, 1996.
- PRODY, C.A.; ZEVI-SOKIN, D.; GNATT, A.; GOLDBERG, O.; SOREQ, H. Isolation and characterization of full-length cDNA clones coding for cholinesterase from fetal human tissues. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, v.84, p.3555-3559, 1987.
- REAVEN G.M.; CHEN, Y.D.; JEPPESEN, J.; MAHEUX, P.; KRAUSS, R.M. Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense, low density lipoprotein particles. *J.Clin.Invest.*, v.92, p.141-146, 1993.
- RUBINSTEIN, H.M.; DIETZ, A.A.; HODGES, L.K.; LUBRANO, T.; CZEBOTAR, V. Silent cholinesterase gene: variation in the properties of serum enzyme in apparente homozygotes. *J.Clin.Invest.*, v.49, p.479-486, 1970.
- RUBINSTEIN, H.M.; DIETZ, A.A.; LUBRANO, T. E1k, another quantitative variant at cholinesterase locus 1. *J.Med.Genet.*, v.15, p.27-29, 1978.
- RYHÄNEN, R.J.; JAUHIANEN, M.S.; LAITINEN, M.V.; PUHAKAINEN, E.V. The relationship between humn serum pseudocholinesterase, lipoproteins, and apolipoproteins (APOHDL). *Biochem.Med.*, v.28, p.241-245, 1982.
- SAEED, S.A.; CHADWICK, G.R.; MILL, P.J. action of proteases on human plasma cholinesterase isoenzymes. *Biocim.Biophys.Acta*, v.19, p.186-192, 1971.
- SAMBROOK, J.; FRISCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2.ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Philadelphia, 1989.
- SATTAR, N.; GREER, I.A.; LOUDEN, J.; LINDSAY, G.; McCONNELL, M.; SHEPHERD, J.; PACKARD, C.J. Lipoprotein subfraction changes in normal pregnancy: threshold effect of plasma triglyceride on appearance of small, dense low density lipoprotein. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*, v.82, n.8, p.2483-2491, 1997.

- SAXENA, A.; RAVCH, L.; ASHANI, Y.; DOCTOR, B.P. Structure of glycan moieties responsible for the extended circulatory life time of fetal bovine serum acetylcholinesterase and equine serum butyrylcholinesterase. *Biochem.*, v.36, p.7481-7489, 1997a.
- SAXENA, A.; REDMAN, A.M.G.; JIANG, X.; LOCKRIDGE, O.; DOCTOR P. Differences in active site gorge dimension of cholinesterases revealed by binding of inhibitors to human butyrylcholinesterase. *Biochem.*, v.36, p.14642-14651, 1997b.
- SAYEED, M.A.; MAHTAB, H., LATIF, Z.A.; KHANAM, P.A., AHSAN, K.A.; BANU, A.; AZAD KHAN, A.K. Waist-to-height ratio is a better obesity index than body mass index and waist-to-hip ratio for predicting diabetes, hypertension and lipidemia. *Bangladesh Med.Res.Counc.Bull.*, v.29, n.1, p.1-10, 2003.
- SCHWARZ, M.; GLICK, D.; LOEWENSTEIN, Y.; SOREQ, H. Engineering of human cholinesterases explains and predicts diverse consequences of administration of various drugs and poisons. *Pharmac.Ther.*, v.67; n.2; p.283-322, 1995.
- SCOTT, E.M.; POWERS, R.F. Human serum cholinesterase, a tetramer. *Nat.New Biol.*, v.22, p.83-84, 1972.
- SCOTT, E.M. Inheritance of two types of deficiency of human serum cholinesterase. *Ann.Hum.Genet.*, v.37, p.139-143, 1973.
- SCOTT, E.M.; WRIGHT, R.C. A third type of serum cholinesterase deficiency in Eskimos. *Am.J.Hum.Genet.*, v.28, p.253-256, 1976.
- SEIDELL, J.C.; HAN, T.S.; FESKENS, E.J.; LEAN, M.E. Narrow hips and broad waist circumferences independently contribute to increased risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Intern.Med.*, v.242, n.5, p.401-406, 1997.
- SEIDELL, J.C.; BOUCHARD, C. Visceral fat in relation to health: is it a major culprit or simply an innocent bystander? *Int.J.Obes.Relat.Metab.Disord.*, v.21, n.8, p.626-631, 1997.
- SHAFFERMAN, A.; KRONMAN, C.; FLASHNER, Y.; LEITNER, M.; GROSFELD, H.; ORDENTLICH, A.; GOZES, Y.; COHEN, S.; ARIEL, N.; BARAK, D. et al. Mutagenesis of human acetylcholinesterase: identification of residues involved in catalytic activity and in polypeptide folding. *J.Biol.Chem.*, v.5, p.17640-17648, 1992.
- SHAI, I.; RIMM, E.B.; HANKINSON, S.E.; CURHAN, G.; MANSON, J.E.; RIFAI, N.; STAMPFER, M.J.; MA, J. Multivariate assessment of lipid parameters as predictors of coronary heart disease among postmenopausal women: potential implications for clinical guidelines. *Circulation.* v.110, n.18, p.2824-2830, 2004.

- SIBLEY, S.D.; PALMER, J.P.; HIRSCH, I.B.; BRUNZELL, J.D. Visceral obesity, hepatic lipase activity and dyslipidemia in type 1 diabetes. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*, v.88, supl.7, p.3379-3384, 2003.
- SIDELL, F.R.; KAMINSKIS, A. Influence of age, sex, and oral contraceptives on human blood cholinesterase activity. *Clin.Chem.*, v.21, p.1393-1395, 1975.
- SIMPSON, N.E.; KALOW, W. The "silent" gene for serum cholinesterase. *Am.J.Hum.Genet.*, v.16, p.180-188, 1964.
- SIMPSON, N.E. Factors influencing cholinesterase activity in a Brazilian population. *Am.J.Hum.Genet.*, v.18, p.243-252, 1966.
- SINGH, D.S.; SHUKLA, P.K.; GUPTA, J.P.; DUBE, B. Serum cholinesterase in hepatic disorders. *J.Indian Med.Assoc.*, v.1, p.49-51, 1976.
- SKALEN, K.; GUSTAFSSON, M.; RYDBERG, E.K.; HULTEN, L.M.; WIKLUND, O.; INNERARITY, T.L.; BOREN, J. Subendotelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature*, v.417, n.6890, p.750-754, 2002.
- SMUCKER, S.J.; WILSON, B.W. Multiple molecular forms and lectin interactions of organophosphate-sensitive plasma and liver esterases during development of the chick. *Biochem.Pharmacol.*, 1990, v.40, supl.8, p.1907-1913, 1990.
- SOREQ, H.; ZAMIR, R.; ZEVIN-SONKIN, D.; ZAKUT, H. Human cholinesterase genes localized by hybridization to chromosomes 3 and 16. *Hum.Genet.*, v.77, p.325-328, 1987.
- SOREQ, H.; SEIDMAN, S.; DREYFUS, P.A.; ZEVIN-SONKIN, D.; ZAKUT, H. Expression and tissue-specific assembly of human butyrylcholinesterase in microinjected *Xenopus oocytes*. *J.Biol.Chem.*, v.264, p.10608-10613, 1989.
- SOUZA, R.L.R. Estudos sobre nova banda da butirilcolinesterase (C4/5) verificada em eletroforese. Curitiba, 1995. Dissertação, Mestrado em Genética - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- SOUZA, R.L.; FURTADO, L.; DINIZ, A.C.; SILVA, A.C.; KAISS, J.; PETZL-ERLER, M.L.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Studies on a heterologous complex formed by human butyrylcholinesterase. *Biochem.Genet.*, v.41, p.141-150, 2003.
- SOUZA, R.L.R.; MIKAMI, L.R.; MAEGAWA, R.O.B.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A. Four new mutations in the *BCHE* gene of human butyrylcholinesterase in a Brazilian blood donor sample. *Mol.Genet.Metab.*, v.84, p.349-353, 2005.
- SPARKES, R.S.; FIELD, L.L.; SPARKES, M.C.; CRIST, M.; SPENCE, M.A.; JAMES, K.; GARRY, P.J. Genetic linkage studies of transferring, pseudocholinesterase and chromosome 1 loci. *Hum.Hered.*, v.34, p.96-100, 1984.

- STATSOFT. Microsoft, Inc. Statistica for windows. Tulsa, 1996. 1CD-ROM.
- STEDMAN, E.; EASSON, L.H. Choline-esterase: an enzyme present in the blood-serum of the horse. *Biochem.J.*, v.26, p.2056-2066, 1932.
- STEEGMULLER, H. On the geographical distribution of pseudocholinesterase variants. *Humangenetik*, v.26, p.167-185, 1975.
- STUEBER-ODEBRECHT, N., CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E.A.; PRIMO-PARMO, S.L.; CARRENHO, J.M.X. Studies on the *CHE1* locus of serum cholinesterase and surnames in a sample from Santa Catarina (Southern Brazil). *Rev.Bras.Genet.*, v.8, p.535-543, 1985.
- SUGIMORI, T. Shortened action of succinylcholine in individuals with cholinesterase C5 isozyme. *Can.Anaesth.Soc.*, v.33, p.321-327, 1986.
- SUSSMAN, J.L.; HAREL, M.; FROLOW, F.; OEFNER, C.; GOLDMAN, A.; TOKER, L.; SILMAN, L. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, v.23, p.872-879, 1991.
- TIETZ, N.W., ed. Clinical guide to laboratory tests. Philadelphia: W.B.Saunders, 3 ed., 1995.
- TRIBBLE, D.L.; HOLL, L.G.; WOOD, P.D.; KRAUSS, R.M. Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfraction of differing density and particle size. *Atherosclerosis*, v.93, n.3, p.189-199, 1992.
- TULLOCH-REID, M.K.; WILLIAMS, D.E.; LOOKER, H.C.; HANSON, R.L.; KNOWLER, W.C. Do measures of body fat distribution provide information on the risk of type 2 diabetes in addition to measures of general obesity? *Diab.Care*, v.26, p.2556-2561, 2003.
- UDOM, C.; BARNARD, D.; SMITH, T. Serum cholinesterase isoenzymes and the WHHL rabbit: the relationship between the activity of cholinesterase not bound to low-density-lipoprotein and lipoprotein titer. *Moll.Cell.Biochem.*, v.90, supl.2, p.121-125, 1989.
- VAN ROS, G.; DRUET, R. Uncommon eletrophoretic patterns of serum cholinesterase (pseudocholinesterase). *Nature*, v.29, p. 543-544, 1966.
- VENKATARAMAN, B.V.; IYER, G.Y.; NARAYANAN, R. JOSEPH, T. Erythrocyte and plasma cholinesterase activity in normal pregnancy. *Indian J.Physiol.Pharmacol.*, v.34, n.1, p.26-28, 1990.
- VERJEE, Z.H.; BEHAL, R.; AYIM, E.M. Effect of glucocorticoids on liver and blood cholinesterases. *Clin.Chim.Acta*, v.81, n.1, p.41-46, 1977.

- WANG, C.; EUFEMI, M.; TURANO, C.; GIARTOSIO, A. Influence of the carbohydrate moiety on the stability of glycoproteins. *Biochem.*, v.35, p.7299-7307, 1996.
- WATSON, T.D.; CASLAKE, M.J.; FREEMAN, D.J.; GRIFFIN, B.A.; HINNIE, J.; PACKARD, C.J.; SHEPHERD, J. Determinants of LDL subfraction distribution and concentration in young normolipidemic subjects. *Arterioscler.Thromb.*, v.14, n.6, p.902-910, 1994.
- WAY, R.C.; HUTTON, C.J.; KUTTY, K.M. Relationship between serum cholinesterase and low density lipoproteins in children with nephritic syndrome. *Clin.Biochem.*, v.8, p.103-107. 1975.
- WEBER, U.; BRANK, M.; GRUBIC, Z. Glucocorticoids differentially control synthesis of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in rat liver and brain. *Chem.Biol.Interact.*, v.119, n.120, p.341-347, 1999.
- WESCOE, W.C.; HUNT, C.H.; RIKER, W.F.; LITT, I.C. Regeneration rates of serum cholinesterase in normal individuals and in patients with liver damage. *Am.J.Physiol.*, v.149, p.549-551, 1947.
- WHITTAKER, M. Cholinesterase. New York: Karger, Basel, 1986.
- WHITTAKER, M.; BRITTEN, J.J. E1h, a new allele at cholinesterase locus 1. *Hum.Hered.*, v.37, p.54-58, 1987.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 1999.
- YAMAMOTO, K.; MORITO, F.; MOTOMURA, M.; KANEOKA, H.; SAKAI, T. A case of familial hyper-cholinesterasemia associated with isozyme variant band. *Gastroenterol.Jpn.*, v.21, p.379-384, 1986.
- YAMAMOTO, K.; MORITO, F.; SETOGUCHI, Y.; FUJII, S.; KARIYA, T.; SAKAI, T. Characterization of serum cholinesterase in familial hyper-cholinesterasemia associated with na isozyme variant band. *Gastroenterol.Jpn.*, v.22, p.187-193, 1987.
- YAMANADA, S.; YOSHIDA, M.; YAMAMURA, Y.; NISHIMURA, M.; TAKAESU, Y. A study on acute organophosphorus poisoning: changes in the activity and isoenzyme patterns of serum cholinesterase in human poisoning. *Nippon Eisengaku Zasshi*, v.48, suppl.5, p.955-965, 1993.
- YANAI, M.; HOSHINO, T. Pseudocholinesterase (ChE). *Rinsho Byori*, v.116, suppl.1, p.45-51, 2001.

YOSHIDA, A. MOTULSKY, A.G. A pseudocholinesterase variant (E Cynthiana) associated with elevated plasma enzyme activity. *Am.J.Hum.Genet.*, v.21, p. 486-498, 1969.

ZAKUT, H.; ZAMIR, R.; SINDEL, L.; SOREQ, H. Gene mapping on chorionic villi chromosomes by hybridization in situ: localization of cholinesterase cDNA binding sites to chromosomes 3q21, 3q26-ter and 16q21. *Hum.Reprod.*, v.4, p.941-946, 1989.

ZIMMET, P.Z.: Kelly West Lecture 1991: challenges in diabetes epidemiology: from west to the rest. *Diab. Care.*, v. 15, p. 232-252, 1992.

## ANEXO I

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E INFORMADO

- a) Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “Variabilidade da butirilcolinesterase no *diabetes mellitus*”. É através das pesquisas clínicas que ocorrem os avanços na medicina, e sua participação é de fundamental importância.
- b) O objetivo desta pesquisa é dar indicações da possível função biológica da enzima butirilcolinesterase no organismo humano.
- c) Como em qualquer tratamento você poderá experimentar alguns desconfortos, principalmente relacionados à coleta de sangue.
- d) Estão garantidas todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo.
- e) A sua participação neste estudo é voluntária. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, ou se aceitar a participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção de seu atendimento, que está assegurado.
- f) As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos médicos e bioquímicos que executam a pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.
- g) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames, medicamentos, etc)... Não são da responsabilidade do paciente.
- h) Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Você terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado no próprio H.C.
- i) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo e os tratamentos alternativos. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento com o meu médico. Eu entendi o que não posso fazer durante o tratamento e sei que qualquer problema relacionado ao tratamento será tratado sem custos para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Prof. Vânia M. Alcântara

## ANEXO II

HOSPITAL DE CLÍNICAS – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Curitiba, 28 de junho de 2.002.

limo (a) Sr. (a)  
Vânia Manfredini Alcântara  
Nesta

Prezado(a) Senhor(a):

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "*VARIABILIDADE DAS FORMAS DE BAIXO PESO MOLECULAR DA BUTIRILCOLINESTERASE NO DIABETES MELLITUS TIPO 1 E TIPO 2*", foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96 , 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres: Humanos. Protocolo CEP-HC N° 327.037/2001-04.

Atenciosamente.

Prof. Dr. Renato Tambara Filho  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de  
Clínicas -UFPR



**Dr. Renato**